

# TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	5
LISTE DES TABLEAUX.....	9
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	11
INTRODUCTION.....	13
PREMIÈRE PARTIE : Étude bibliographique .....	15
1. Quid de la brucellose ? .....	15
2. <i>Coxiella burnetii</i> , agent de la fièvre Q .....	17
2.1.Étiologie .....	17
2.2.Epidémiologie descriptive et analytique .....	17
2.3.Physiopathologie de l'infection par <i>Coxiella burnetii</i> .....	18
2.3.1. Pathogénie chez l'animal.....	18
2.3.2. Pathogénie chez l'homme .....	19
2.4.Modalités de l'excrétion de <i>Coxiella burnetii</i> et conséquences pour le diagnostic ...	20
2.5.Description des performances des tests diagnostiques disponibles .....	21
2.6.Plan de maitrise de la fièvre Q .....	22
3. <i>Chlamydophila abortus ovis</i> , agent de la chlamydiose .....	24
3.1.Étiologie .....	24
3.2.Épidémiologie .....	25
3.3.Physiopathologie de l'infection par <i>Chlamydophila abortus</i> .....	25
3.4.Modalités de l'excrétion et conséquences pour le diagnostic .....	27
3.5.Description des performances des tests diagnostiques disponibles .....	28
4. <i>Salmonella Abortusovis</i> , agent de la salmonellose .....	31
4.1.Étiologie .....	31
4.2.Épidémiologie .....	31
4.3.Physiopathologie de l'infection par <i>Salmonella Abortusovis</i> .....	32
4.4.Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic .....	34
4.5.Description des performances des tests diagnostiques disponibles .....	35
5. BDV, agent de la Border Disease ou « Pestivirus ovine » ou « Maladie de la frontière »	37

5.1.Étiologie .....	37
5.2.Épidémiologie .....	37
5.3.Physiopathologie de l'infection par le BDV et le BVDV .....	38
5.4.Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic .....	40
5.5.Description des performances des tests diagnostiques disponibles .....	41
5.5.1. Tests diagnostiques pour la recherche du BVDV .....	41
5.5.1. Tests diagnostiques pour la recherche du BDV .....	41
6. <i>Toxoplasma gondii</i> , agent de la toxoplasmose .....	43
6.1.Étiologie .....	43
6.2.Épidémiologie .....	43
6.3.Physiopathologie de l'infection par <i>Toxoplasma gondii</i> .....	44
6.4.Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic .....	46
6.5.Description des performances des tests diagnostiques.....	47

## DEUXIÈME PARTIE : Enquêtes 1 et 2 auprès des laboratoires vétérinaires

départementaux, supports et compléments de l'enquête 3 présentée en troisième partie .....	49
1. Matériel et méthodes .....	50
1.1.Les interlocuteurs .....	50
1.1.1. Choix de l'interlocuteur .....	50
1.2.Les questionnaires.....	50
1.2.1. Choix du support .....	50
1.2.2. Diffusion.....	50
1.2.3. Collecte et analyse des données .....	51
2. Résultats des enquêtes 1 et 2 .....	51
2.1.Enquête 1 : Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants- Enquête auprès des laboratoires (étude en cours menée par le groupe national sur le diagnostic différentiel chez les petits ruminants, animé par l'Institut de l'Élevage (Mme R. de Cremoux) et l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, dans le cadre des actions de l'UMT Santé des Petits Ruminants).....	51
2.1.1. Participation à l'étude.....	51
2.1.2. Gestion des prélèvements reçus par le laboratoire .....	52
2.1.3. Traitement des échantillons.....	58
2.1.4. Chlamydie : description des techniques employées .....	59
2.1.5. Toxoplasmose : description et techniques employées.....	62

2.1.6.	Border Disease : description et techniques employées .....	64
2.1.7.	Salmonellose : description et techniques employées .....	67
2.1.8.	Conseils en termes de prélèvements et d'analyses .....	70
2.2.	Enquête 2 (Rousset et Nicollet, 2010).....	72
2.2.1.	Participation à l'étude.....	72
2.2.2.	Acheminement des prélèvements autres que sang ou sérum .....	73
2.2.3.	Descriptions des demandes d'analyse pour la fièvre Q abortive.....	74
2.2.4.	Techniques d'analyses utilisées pour la fièvre Q abortive .....	76
2.2.5.	Interprétation des résultats d'analyses utilisées pour la fièvre Q abortive ...	79
2.2.6.	Coûts des analyses pour la fièvre Q abortive .....	81
2.2.7.	Capacités de stockage pour tous les types de prélèvements analysés .....	82
2.2.8.	Participation à un réseau pilote de laboratoires.....	83
TROISIÈME PARTIE : Enquête inédite auprès des vétérinaires praticiens.....		85
1.	Intérêts et objectifs de l'enquête 3 .....	85
2.	Matériel et méthodes .....	86
2.1.	Les interlocuteurs .....	86
2.1.1.	Choix de l'interlocuteur .....	86
2.1.2.	Choix de l'échantillon .....	86
2.2.	Le questionnaire .....	86
2.2.1.	Choix du support .....	86
2.2.2.	Diffusion.....	87
2.2.3.	Collecte et analyse des données .....	87
3.	Résultats de l'enquête 3 .....	88
3.1.	Enquête 3 : Méthodologie de prélèvement et d'identification d'agents abortifs ovins et caprins auprès des vétérinaires praticiens.....	88
3.1.1.	Participation à l'étude.....	88
3.1.2.	Appréciation du niveau de déclaration des éleveurs .....	89
3.1.3.	Les prélèvements en vue d'un diagnostic étiologique.....	92
3.1.4.	Sensibilisation et formations sur les avortements et leurs déclarations .....	101
3.1.5.	Attentes et ressentis face à la situation actuelle .....	102

QUATRIÈME PARTIE : Discussion.....	103
1. Limites de l'enquête 3 .....	103
1.1.Population ayant participé à l'enquête .....	103
1.2.Protocole d'enquête.....	104
1.2.1. Canal de communication : l'envoi du questionnaire par mail.....	104
1.2.1.a. Choix du canal de communication .....	104
1.2.1.b. La diffusion .....	105
1.2.1.c. Temps nécessaire pour compléter le questionnaire .....	105
1.2.2. À propos des questions du formulaire.....	105
1.3.Résultats de l'enquête .....	106
1.3.1. Présentation des résultats .....	106
1.3.2. À propos de la qualité des réponses obtenues .....	107
2. Mise en perspective des résultats de l'enquête 3 avec les enquêtes 1 et 2 .....	107
2.1.Déclaration des avortements chez les petits ruminants.....	107
2.2.Prélèvement, acheminement des échantillons pour la recherche d'agents abortifs .	109
2.2.1. Les prélèvements.....	109
2.2.2. Emballage et acheminement des prélèvements .....	110
2.3.Agents abortifs recherchés et méthodes utilisées.....	110
2.4.Attentes et perspectives.....	111
CONCLUSION .....	113
BIBLIOGRAPHIE .....	115
ANNEXES .....	123

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Prévalence et incidence de la brucellose chez les caprins en France de 1985 à 2003 (troupeaux caprins ou mixtes à majorité de caprins). (Source : données Direction générale de l'alimentation/Laboratoire national de référence brucelloses et Jaÿ <i>et al.</i> , 2013 a).....	16
Figure 2 : Prévalence et incidence de la brucellose chez les ovins en France de 1985 à 2003 (troupeaux ovins ou mixtes à majorité d'ovins). (Source : données Direction générale de l'alimentation/Laboratoire national de référence brucelloses et Jaÿ <i>et al.</i> , 2013 a).....	16
Figure 3 : Les départements ayant répondu au questionnaire en ligne (en rouge).....	52
Figure 4 : Proportion des laboratoires qui déclarent que les modalités d'emballage répondent à la réglementation en vigueur .....	53
Figure 5 : Proportion des échantillons qui arrivent sous couvert de froid au laboratoire .....	53
Figure 6 : Bilan de l'état de conservation des échantillons à leur réception selon le mode d'acheminement .....	54
Figure 7 : Durées de stockage de matériel génétique selon les laboratoires .....	56
Figure 8 : Durées de stockage des sérums selon les laboratoires.....	56
Figure 9 : Durées de stockage d'écouvillons selon les laboratoires .....	56
Figure 10 : Durées de stockage d'organes selon les laboratoires .....	57
Figure 11 : Evaluation de la qualité de suivi des recommandations selon une échelle de 0 (nul ou très mauvais) à 10 (excellent) .....	70
Figure 12 : Les départements ayant répondu au questionnaire (en rouge).....	72
Figure 13 : Modalités d'acheminement des prélèvements (autre que le sang) au laboratoire (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	73
Figure 14 : Répartition des laboratoires fournissant ou non des emballages réglementaires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	73
Figure 15 : Financement de l'emballage et du transport des prélèvements selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	74

Figure 16 : Présence d'un support de demande d'analyse dédié aux causes infectieuses abortives et informations recueillies dans les commémoratifs (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	74
Figure 17 : Nombre d'analyses fièvre Q effectuées en 2009 par espèce (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	75
Figure 18 : Méthode de diagnostic utilisée par les laboratoires pour la mise en évidence de la fièvre Q (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	76
Figure 19 : Répartition des techniques PCR commerciale, par différenciation du kit utilisé, et « maison » dans les différents laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	77
Figure 20 : Répartition des différentes méthodes d'analyse indirectes principalement utilisées par les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	78
Figure 21 : Proportions des laboratoires pratiquant des sérologies de mélange sur sérums ou de lait (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	78
Figure 22 : Mode de restitution des résultats PCR selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	79
Figure 23 : Modes de restitutions des résultats sérologiques dans les différents laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	80
Figure 24 : Modes de restitution des résultats finaux selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	80
Figure 25 : Coût moyen d'une analyse PCR Coxiella selon le département interrogé (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	81
Figure 26 : Coût moyen d'une analyse sérologique, exemple de l'ELISA selon le département (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010) .....	82
Figure 27 : Capacités temporelles de stockage des prélèvements (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010).....	83
Figure 28 : Les départements d'exercice des vétérinaires ayant répondu au questionnaire .....	88
Figure 29 : Proportion des éleveurs déclarant un avortement ou une série d'avortements ponctuels.....	89
Figure 30 : Proportion des éleveurs déclarant plusieurs avortements groupés .....	90
Figure 31 : Motif de non déclaration des avortements chez les petits ruminants .....	91
Figure 32 : Distribution des instaurateurs d'un protocole de déclaration d'avortement, dans les différents départements, selon les vétérinaires praticiens.....	92

Figure 33 : Motifs principaux d'une demande d'analyse pour la recherche d'agents abortifs (53 exprimés).....	94
Figure 34 : Prélèvements effectués en complément des prises de sang lors d'une recherche d'agent abortif (55 exprimés).....	94
Figure 35 : Animaux prélevés lors de la mise en place d'un protocole avortement .....	95
Figure 36 : Proportion de vétérinaires faisant appel à d'autres laboratoires que leur laboratoire départemental .....	96
Figure 37 : Motifs d'envoi vers un autre laboratoire que leur laboratoire départemental pour les vétérinaires.....	96
Figure 38 : Part des vétérinaires qui déclarent l'existence d'un protocole de prélèvement et d'envoi dans leur département .....	98
Figure 39 : Part des prélèvements analysés malgré un non respect des protocoles d'envoi .....	98
Figure 40 : Agents recherchés en première intention face à un épisode abortif .....	99
Figure 41 : Part des vétérinaires praticiens qui participent aux formations proposées .....	101

Rapport-Gratuit.com



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des travaux effectués lors de l'étude de Glor <i>et al.</i> (2013) .....	47
Tableau 2 : Modalités de réception des prélèvements par les laboratoires lors d'un diagnostic d'avortement .....	52
Tableau 3 : Etat de conservation des échantillons selon leur nature .....	54
Tableau 4 : Gestion et modes de préparation des placentas pour la réalisation d'analyses .....	58
Tableau 5 : Gestion et modes de préparation des avortons pour la réalisation d'analyses .....	58
Tableau 6 : Conditions d'utilisation d'analyses de mélange .....	59
Tableau 7 : Différents kits employés pour les techniques de diagnostic indirect dans les laboratoires départementaux.....	60
Tableau 8 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la chlamydie.....	60
Tableau 9 : Nom des kits d'analyse employés par les différents laboratoires interrogés .....	61
Tableau 10 : Format d'expression des résultats pour la chlamydie .....	61
Tableau 11 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la toxoplasmose .....	62
Tableau 12 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la toxoplasmose.....	63
Tableau 13 : Format d'expression des résultats pour la toxoplasmose .....	63
Tableau 14 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la Border disease .....	64
Tableau 15 : Techniques antigénémiques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la Border disease .....	65
Tableau 16 : Techniques PCR de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la Border disease.....	65
Tableau 17 : Echantillons utilisés pour la réalisation d'analyses PCR lors d'un diagnostic direct.....	65
Tableau 18 : Format d'expression des résultats pour la Border disease .....	66

Tableau 19 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la salmonellose .....	67
Tableau 20 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la salmonellose .....	68
Tableau 21 : Echantillons utilisés lors du diagnostic direct de salmonellose .....	68
Tableau 22 : Format d'expression des résultats pour la salmonellose .....	69
Tableau 23 : Analyses ayant donné un résultat positif lors de la recherche fièvre Q pour la mise en évidence d'un agent infectieux abortif.....	75
Tableau 24 : Prélèvements analysés par les laboratoires pour la mise en évidence de la fièvre Q.....	76
Tableau 25 : Structures assurant le financement des protocoles de mise en évidences des agents abortifs selon les vétérinaires praticiens .....	93
Tableau 26 : Conditions de prise en charge financière par le GDS selon les vétérinaires praticiens .....	93
Tableau 27 : Modes d'acheminement des prélèvements vers les laboratoires départementaux .....	95
Tableau 28 : Modes de stockage des prélèvements par les vétérinaires avant de les envoyer au laboratoire d'analyse .....	97
Tableau 29 : Classement par ordre d'importance des 5 maladies abortives principales selon les vétérinaires praticiens.....	100
Tableau 30 : Structures proposant des formations sur la gestion des avortements aux vétérinaires praticiens (48 exprimés) .....	101

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

Acersa : Association pour la Certification en Santé Animale  
Adilva : Association française des Directeurs et cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses  
ADN : Acide désoxyribonucléique  
ADR : Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route  
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché  
Anses : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail  
ARN : Acide ribonucléique  
Avem : Association Vétérinaires Eleveurs du Millavois  
BDV : Border Disease Virus  
BVDV : Virus de la Diarrhée Virale Bovine  
CD : Cluster de différenciation  
CSFV : Virus de la Peste Porcine Classique  
DDCSPP : Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations  
DEAL : Direction de l'Environnement, l'Aménagement et du Logement  
DO : Densité Optique  
Elisa : Enzyme-linked immunosorbent assay  
ENV : Ecole Nationale Vétérinaire  
FODSA : Fédération des Organismes de Défense Sanitaire de l'Aveyron  
FQ : Fièvre Q  
GDS : Groupement de Défense Sanitaire  
GTV : Groupement Technique Vétérinaire  
HT : Hors taxe  
IBR : Rhinotrachéite Infectieuse Bovine  
IFAT : Immunofluorescence indirecte  
Ifi : Immunofluorescence indirecte  
IFN : Interféron  
IFU : Unités formant des inclusions  
Ig : Immunoglobuline  
IHA : Hémagglutination indirecte  
IHC : Immunohistochimie  
IL : Interleukine  
IM : Intramusculaire  
INRS : Institut national de la recherche scientifique  
IPI : Individu Infecté Permanent  
Lasat : Laboratoire d'Analyse Sèvres Atlantique  
LAT : Test d'agglutination au latex

LDA : Laboratoire Départemental d'Analyse  
LNR : Laboratoire National de Référence  
LVD : Laboratoire Vétérinaire Départemental  
MAT : Test d'agglutination modifiée  
mL : millilitre  
PBS : Tampon Phosphate Salin  
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne  
qPCR : PCR quantitative  
RFLP : Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction  
RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR  
TNF : Facteur de Nécrose Tumorale  
UMT : Unité Mixte Technologique

## INTRODUCTION

De nos jours, la gestion des avortements chez les petits ruminants est une préoccupation pour les vétérinaires traitants, les organismes tels que les Groupements de Défense Sanitaire (GDS), l'Institut de l'Élevage ainsi que pour une part des éleveurs. C'est aussi une préoccupation pour l'Etat dans la mesure où la déclaration obligatoire des avortements constitue une partie de la surveillance d'une possible réintroduction de la brucellose sur notre territoire. En effet, les déclarations d'avortement chez les ovins et les caprins sont encore anecdotiques dans bon nombre de départements français. Ceci est le résultat de nombreux facteurs.

Il convient de définir précisément ce qu'est un avortement d'après la réglementation. Il s'agit de la mort, suivie généralement par l'expulsion, d'un fœtus entre la fin de la formation des organes et la fin de la gestation. C'est-à-dire après 42 jours de gestation chez les bovins et 30 jours environ chez les petits ruminants. D'un point de vue réglementaire (surveillance de la brucellose), un avortement est l'expulsion avant terme d'un fœtus, mort ou vivant ou une mise bas à terme d'un nouveau né qui meurt dans les 48 heures (GDS Rhône-Alpes, GTV Rhône-Alpes, VetAgro Sup, 2010).

Une grande part des éleveurs français de petits ruminants ignore l'obligation de déclaration. De plus, le prix d'un agneau semble souvent dérisoire face au coût des analyses pour la recherche des agents abortifs responsables des pertes : on estime la marge brute à 80€ pour un agneau. Par ailleurs, l'obligation de déclaration d'avortement et les protocoles de cette déclaration sont souvent mal maîtrisés (trois avortements ou plus sur une période de sept jours ou moins (Arrêté du 10 octobre 2013, 2013)) 5 à 10 % de pertes, au moins trois avortements en sept jours ou moins pour des avortements groupés?). Enfin, les éleveurs craignent souvent les répercussions liées à la découverte d'un agent abortif (faudra-t-il éliminer un part du cheptel, que penseront les éleveurs voisins ...?).

Cependant, ce phénomène n'est pas seulement imputable au ressenti des éleveurs sur le sujet. Les causes d'avortement sont multiples (alimentation, agents abortifs, conduite d'élevage) et les signes cliniques ne permettent que très rarement d'orienter le diagnostic vers un agent plutôt qu'un autre. De même, la mise en évidence d'un agent pathogène responsable du phénomène est souvent compliquée. Malgré une démarche d'harmonisation nationale diffusée depuis un an, dont l'initiative s'est faite en accord avec la DGAL et en parallèle d'un travail équivalent piloté par GDS France chez les bovins (groupe de travail multipartenarial piloté par l'Institut de l'Élevage et l'École vétérinaire de Toulouse), on constate encore sur le terrain une diversité de pratiques concernant la nature des prélèvements à réaliser et celle des analyses à demander et les laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) n'ont pas tous les mêmes méthodes de diagnostic.

La sous déclaration des avortements minimise la prévalence des cinq agents abortifs principaux dans les cheptels français. L'une des conséquences de l'absence de déclaration et de

mise en œuvre d'un diagnostic différentiel est tout d'abord une perte économique. En effet, d'après Guérin (2004), on estime que 2 % des brebis avortent chaque année et que ces avortements posent d'importants problèmes dans 30 % des élevages français. Ceci pénalise l'éleveur d'une part par une perte numérique (moins d'agneaux ou chevreaux produits chaque année), mais aussi par une perte de production indirecte : une brebis ou une chèvre qui avorte précocement dans sa gestation peut avoir une production laitière très affectée voire nulle et tout agent abortif présent dans l'élevage qui n'est pas pris en compte peut engendrer des problèmes ultérieurs de reproduction (retard de la reprise de cyclicité, infertilité ...).

De plus, bon nombre d'agents abortifs sont responsables de zoonoses. C'est le cas, par exemple, lors de toxoplasmose, fièvre Q, chlamydie, brucellose, listériose, leptospirose ou de campylobactériose.

De ce fait, la gestion des avortements chez les petits ruminants est capitale pour limiter les pertes économiques et améliorer les conditions d'élevage des secteurs ovins et caprins. Elle intervient également dans un processus de préservation de la santé publique dans la mesure où elle peut contribuer à limiter la propagation d'agents de zoonoses.

Le but de ce travail est de préciser les modalités de mise en œuvre des procédures de diagnostic différentiel des avortements appliquées aux maladies dites de première intention. Celles-ci ont été définies en fonction de la fréquence de leur implication dans les avortements : *Toxoplasma gondii* (toxoplasmose), *Coxiella burnetii* (fièvre Q), *Chlamydophila abortus* (chlamydie), *Salmonella Abortusovis* (salmonellose) et le virus de la Border disease.

Une enquête a tout d'abord été réalisée auprès des vétérinaires traitants confrontés à la problématique de séries d'avortements chez les petits ruminants. Elle avait pour but de préciser l'attitude des vétérinaires en matière de diagnostic d'avortements et de mieux appréhender la variabilité de la gestion de ce diagnostic selon les départements français. Par ailleurs, une seconde enquête a porté sur les méthodes d'analyse mises à la disposition par les laboratoires vétérinaires pour identifier les agents responsables. Elle a été conduite par le groupe national sur le diagnostic différentiel des petits ruminants<sup>1</sup>, piloté par l'Institut de l'Élevage en collaboration avec l'École Nationale Vétérinaire (ENV) de Toulouse dans le cadre de l'UMT Maîtrise de la Santé des Petits Ruminants (UMT SPR).

---

<sup>1</sup> Ce groupe de travail a rassemblé un ensemble d'acteurs de terrain (Groupements de Défense Sanitaire, Groupements techniques vétérinaires, laboratoires d'analyses) au sein de leurs structures nationales, régionales ou départementales et ont bénéficié de l'expertise d'experts de Races de France, des écoles vétérinaires, de l'INRA et de l'Anses (Niort, Alfort, Sophia Antipolis).

# PREMIÈRE PARTIE : Étude bibliographique

Ce travail sera donc conduit sur cinq agents abortifs prioritaires : *Coxiella burnetii* (fièvre Q), *Chlamydophila abortus* (chlamydie), *Salmonella Abortusovis* (salmonellose), le virus de la Border disease et *Toxoplasma gondii* (toxoplasmose). Ces agents sont dits prioritaires car ils sont majoritairement responsables des avortements rencontrés aujourd'hui même si les agents de Border disease et de la salmonellose abortive ne sont pas rencontrés dans toutes les régions d'élevage. Par ailleurs, ils induisent des problèmes considérables dans l'élevage de par leur contagiosité ou les pertes qu'ils engendrent. De plus, ce sont aussi des agents responsables de zoonoses et ils présentent alors un risque pour la santé des populations (Masala *et al.*, 2007). Cette dernière information n'est cependant pas valable pour les cinq agents puisque *Salmonella Abortusovis* et le virus de la Border disease ne sont pas des agents de zoonose et la chlamydie a un impact très relatif sur l'Homme.

## 1. Quid de la brucellose ?

La brucellose ne fait pas partie de l'étude bien qu'étant responsable d'avortements et agent de Maladie de catégorie 1 d'après l'Arrêté du 29 juillet 2013.

D'après Fediaevsky *et al.* (2009), aucun foyer de brucellose ovine ou caprine n'a été mis en évidence en France depuis fin 2003 et la vaccination n'a plus lieu depuis 2008. Soixante-quatre départements français sont officiellement indemnes de brucellose d'après la Commission Européenne depuis 2006. Cependant, la surveillance est maintenue pour identifier le plus précocement possible une éventuelle réintroduction de cette maladie : un dépistage sérologique, dont la fréquence diffère selon les départements français et les types d'élevages, est donc réalisé dans les troupeaux (surveillance active) et la déclaration d'avortements (seuil fixé à trois avortements en 7 jours ou moins, d'après l'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) est obligatoire (surveillance événementielle).

Malgré cela, tous les départements français ne sont pas qualifiés « officiellement indemnes de brucellose ». Cela peut s'expliquer en partie par le fait que la vaccination a été pratiquée durant de nombreuses années dans certains départements. Une des difficultés rencontrées provient de la l'appréciation des résultats positifs en sérologie vis-à-vis de la brucellose et de ses implications pour les cheptels (APMS et suspension de la qualification dans l'attente d'une validation ou d'une infirmation de ces résultats) d'où la révision actuelle de la gestion de la prophylaxie vis à vis de la brucellose dans l'Arrêté du 10 Octobre 2013. Or, dans le contexte actuel de contrôle de la brucellose, ces résultats sont souvent faussement positifs aux tests sérologiques en relation notamment avec des réactions croisées avec *Yersinia enterocolitica*.

De plus, la déclaration d'avortement est une faille dans le processus de surveillance de la brucellose en France. En effet, les données traitées par Fediaevsky *et al.* (2009) mettent en évidence que seul 1,44 % des élevages de petits ruminants ont déclaré un avortement et que le taux individuel d'avortement calculé n'est que de 0,06 % (Cf. Figures 1 et 2). Ceci est très en deçà des taux d'avortements retrouvés sur le terrain dans les départements où les événements abortifs sont mieux pris en compte.

Figure 1 : Prévalence et incidence de la brucellose chez les caprins en France de 1985 à 2003 (troupeaux caprins ou mixtes à majorité de caprins). (Source : données Direction générale de l'alimentation/Laboratoire national de référence brucelloses et Jaÿ et al., 2013 a).

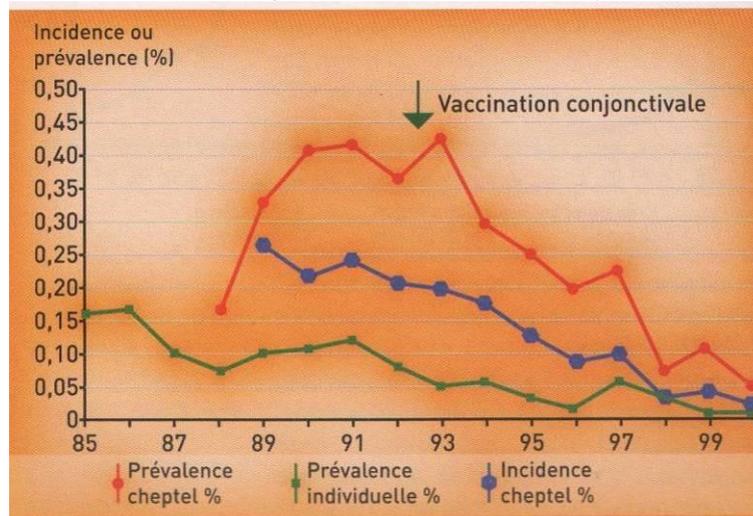
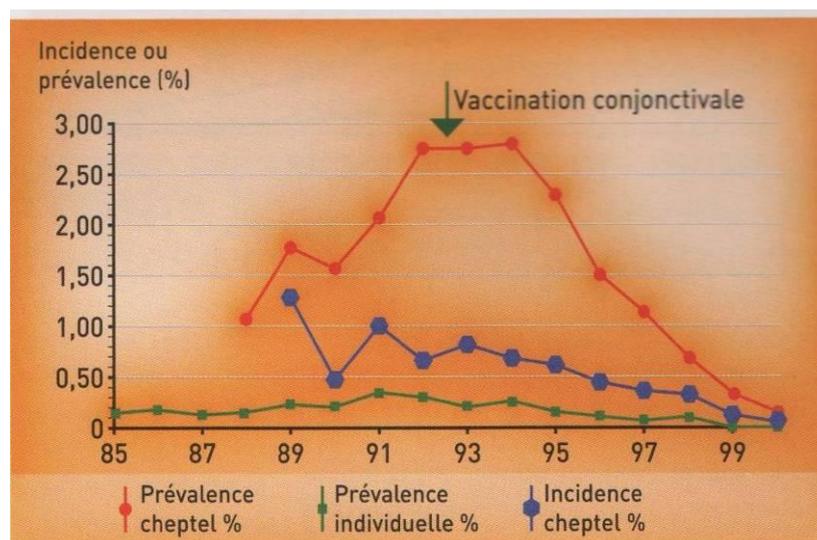


Figure 2 : Prévalence et incidence de la brucellose chez les ovins en France de 1985 à 2003 (troupeaux ovins ou mixtes à majorité d'ovins). (Source : données Direction générale de l'alimentation/Laboratoire national de référence brucelloses et Jaÿ et al., 2013 a)



Enfin, comme le soulignent Jaÿ *et al.* (2013 b) et Hars *et al.* (2013) dans leurs travaux, le statut indemne de brucellose français n'est pas chose acquise. En effet, en 2012, un foyer de brucellose bovine à *Brucella melitensis* biovar 3 a été mis en évidence dans le massif du Bargy en Haute-Savoie. De plus, suite à la mise en place d'une enquête épidémiologique, il s'est avéré que les bouquetins du massif de Bargy constituaient un important réservoir de brucellose. Cependant, les observations effectuées sur le terrain n'ont pas permis de déterminer avec certitude quelle était l'origine du foyer brucellique bovin puisque les contaminations interspécifiques semblent rares et imprévisibles. Ce foyer brucellique a permis de rappeler l'importance du maintien d'un réseau de surveillance et le fait que la brucellose pourrait encore représenter une éventuelle menace pour le cheptel français.

La brucellose n'a donc pas été mise en évidence dans les élevages de petits ruminants français depuis 2003. Cependant, un cas de brucellose bovine à *Brucella melitensis* biovar 3 a été détecté en 2012 dans le département de Haute-Savoie. Ce dernier cas répertorié aurait pu être contaminé par des bouquetins malades de la région. Ces observations mettent en exergue que la surveillance doit être poursuivie et qu'un statut indemne n'est pas chose acquise étant donné la recrudescence de cas de brucellose parmi la faune sauvage notamment.

## 2. *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q

### 2.1. Etiologie

*Coxiella burnetii* est une bactérie Gram –, intracellulaire obligatoire et aérobique. Par le passé, elle était classée dans la famille des *Rickettsiaceae* puis les analyses biomoléculaires ont permis de mettre en évidence qu'il s'agissait de deux familles distinctes. Actuellement, *Coxiella* appartient à l'embranchement des Protéobactéries et sa famille est considérée comme proche de celles de *Legionella*, *Francisella* et *Rickettsiella* (Marhuenda, 2006).

### 2.2. Epidémiologie descriptive et analytique

La fièvre Q est une maladie enzootique à l'heure actuelle en France. L'incidence française de la maladie a augmenté depuis 2007. Ceci a permis de mettre en évidence une forte contagiosité de *Coxiella burnetii*.

Ces dix dernières années, la France a connu quatre épisodes majeurs de cas groupés humains de fièvre Q confirmant le rôle prépondérant de la transmission par aérosols des bactéries dans leur dissémination. Les conditions météorologiques telles que le vent ont un rôle majeur de vecteur (De Cremoux *et al.*, 2012).

Cependant, l'épidémie la plus marquante est celle qui a eu lieu aux Pays Bas de 2007 à 2010. En effet, en 2005, deux chèvres laitières ont déclaré la maladie dans le sud du pays et dans cette même région, ceux sont plus de 4 000 cas humains qui ont été dénombrés de 2007 à 2010. Les cas humains étaient concentrés dans un périmètre de cinq kilomètres autour d'élevages de chèvres laitières elles aussi touchées par la fièvre Q. Dans ces zones, 15 % de la population étaient infectés et parmi les malades, 20 % ont dû être hospitalisés (Van der Hoek *et al.*, 2012 a ; Dijkstra *et al.*, 2012).

Les sujets les plus touchés par la maladie étaient les hommes, les fumeurs et les personnes de 40 à 60 ans. Lors de la survenue de la maladie, les symptômes les plus souvent rencontrés étaient un état grippal, une fièvre (dans 92 % des cas), une pneumonie (dans 62 % des cas), une hépatite (dans moins de 1 % des cas) (Van der Hoek *et al.*, 2012 b ; Dijkstra *et al.*, 2012).

Des moyens de lutte drastiques ont alors été mis en place et ont conduit à une baisse de l'incidence des cas de fièvre Q aiguë mais une augmentation de la séroprévalence dans la population (passage de 2,4 % de 2006 à 2007 à 9 % chez les femmes enceintes et 12,2 % chez les donneurs de sang de 2007 à 2009). Cette progression de la séroprévalence dans la population est allée de paire avec une recrudescence du nombre de porteurs chroniques (Van der Hoek *et al.*, 2012 b ; Dijkstra *et al.*, 2012).

L'implication d'une absorption par voie orale à la suite de la consommation conséquente de lait et produits au lait cru contaminés (Arricau Bouvery *et al.*, 2003) a été suggérée. Cette hypothèse a été jugée possible mais il semblerait que l'ingestion de lait cru contaminé soit une voie de contamination mineure (Rodolakis et Dufour, 2006) voire exceptionnelle (Anses, 13 Juillet 2010).

De même, la transmission par les tiques est négligeable et celle par les mouches n'a jamais été prouvée (Acersa, 2007). L'environnement peut constituer une source de contamination. En effet, les matières virulentes présentes dans l'environnement peuvent contribuer à la génération d'aérosols contaminés susceptibles d'être inhalés par les animaux comme par les hommes.

*Coxiella* touche les ruminants, les animaux de compagnie, les oiseaux les arthropodes et les reptiles. C'est aussi, comme exposé précédemment, un agent de zoonose. Il est par ailleurs présent sur toute la planète à l'exception de la Nouvelle Zélande (Arricau Bouvery *et al.*, 2003 ; Van den Brom *et al.*, 2012 ; Roest *et al.*, 2012).

### **2.3. Physiopathologie de l'infection par *Coxiella burnetii***

#### **2.3.1. Pathogénie chez l'animal**

D'après Van den Brom *et al.* (2012), lors d'une inoculation intra-nasale (seule étude au cours de laquelle les animaux ont été infectés par cette voie et non par injection sous cutanée) de petits ruminants gravides, par des inoculums de  $10^4$  à  $10^6$  *Coxiella burnetii*, on note que les cellules trophoblastiques de l'allantochorion sont les premières touchées. Il s'agit donc de la première cible de l'agent pathogène et cette infection est détectable par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) et Immunohistochimie (IHC) deux à quatre semaines après l'inoculation. Il semblerait par ailleurs que ce soit le seul lieu de répllication de la bactérie.

Au niveau lésionnel, on observe donc des œdèmes de l'allantochorion avec une vacuolisation de trophoblastes. Ces vacuoles hébergent les bactéries. Il est à noter que seuls les trophoblastes inter-cotylédonaires sont touchés avec des signes d'inflammation purulente à nécro-purulente (Navarro *et al.*, 2009) et parfois des calcifications ponctuelles. Par la suite (40 à 60 jours post infection), la base des villosités cotylédonaires est touchée à son tour et cette colonisation des cotylédons s'oriente de la périphérie vers le centre jusqu'à ce que la plupart des trophoblastes soient touchés (environ 60 jours après l'inoculation). Cependant, aucun antigène de *Coxiella burnetii* n'est jamais retrouvé dans les trophoblastes qui recouvrent les villosités cotylédonaires ce qui signifie que la colonisation bactérienne ne semble pas perturber les transferts de nutriments et de gaz entre la mère et le fœtus. Cela signifie que l'infection par la fièvre Q n'est pas forcément létale pour le fœtus puisque les échanges sont préservés. Au moment de la parturition, l'allantochorion apparait alors épaissi et recouvert d'un exsudat brun/jaune.

Par ailleurs, dès 40 jours après l'inoculation, le nombre de tissus infectés et leurs concentrations en *Coxiella burnetii* augmentent. On observe donc beaucoup de bactéries dans l'allantochorion, les placentomes mais aussi dans les liquides allantoïdes et amniotiques, la rate, le foie, les reins, les poumons et le cœur du fœtus.

Chez les mères, on a pu détecter de l'acide désoxyribonucléique (ADN) de la bactérie dans les voies respiratoires supérieures, la rate et le thymus 14 jours après l'infection puis dans l'utérus et

le placenta quatre semaines post-inoculation et enfin dans les haut et bas appareils respiratoires, le système hématopoïétique, le foie, le cœur et les tractus urinaire et digestif de 40 à 70 jours post-infection. On retrouve en particulier des bactéries dans les débris d'allantochorion (dû à la nécrose), les macrophages et les cellules polynucléaires. Suite à la parturition, la concentration en agent pathogène décroît progressivement dans tous les tissus infectés à l'exception des sécrétions nasales, des amygdales, les sécrétions du haut appareil respiratoire, l'utérus, les caroncules, la vessie et l'intestin mais ceci n'est pas visible chez toutes les mères.

Enfin, on ne peut pas exclure qu'une femelle non gravide héberge la bactérie et que le développement de l'infection ainsi que sa détection soient possibles lors de la mise en place de la gestation. Ce phénomène repose sur le fait que les trophoblastes deviennent sensibles et permettent la multiplication de l'agent pathogène chez l'animal gravide. Ainsi, une étude menée par Alsaleh *et al.* (2011) consistait à flusher l'oviducte, l'utérus et les ovaires de brebis infectées et une analyse PCR a été réalisée sur les échantillons prélevés à l'issue du flushing. Ces analyses ont alors permis de mettre en évidence une infection de l'appareil reproducteur des mères et expliquent le fort risque de contamination du fœtus lors d'une gestation.

De plus, on remarque que malgré l'infection par *Coxiella burnetii*, toutes les mères n'avortent pas et ne donnent pas forcément naissance à des produits morts. Les facteurs intervenant dans la survie ou la mort du fœtus sont encore à déterminer.

Cependant, l'avortement est le signe clinique le plus connu pour la fièvre Q même si les signes peuvent être variés et différents entre les hommes et les animaux.

Chez les animaux, *Coxiella burnetii* est responsable d'avortements intervenant surtout en fin de gestation, de rétention placentaire, d'endométrite, d'infertilité et de la naissance de produits chétifs lors de la mise bas. Il semblerait par ailleurs que les avortements soient plus massifs chez les chèvres. En effet, ils peuvent toucher plus de 90 % des femelles d'un troupeau atteint de fièvre Q (Arricau Bouvery *et al.*, 2003 ; Courcoul *et al.*, 2011).

### 2.3.2. Pathogénie chez l'homme

Chez l'Homme, bien que de nombreuses personnes soient porteuses de la bactérie, dans plus de 60% des cas il s'agit d'une forme inapparente. Lors d'une forme aiguë, les signes cliniques sont souvent réduits à un syndrome grippal avec maux de tête, douleurs musculaires, maux de gorge, nausées, vomissements, malaises ... Dans des cas sévères, la fièvre peut durer une à deux semaines et entraîner des troubles hépatiques ou une pneumonie. En revanche, la fièvre Q peut donner lieu à une atteinte chronique sévère voire débiliteuse chez les personnes immunodéprimées ou souffrant de valvulopathie pouvant être mortelle. Enfin, chez les femmes enceintes, une infection peut conduire à des avortements, la naissance d'enfants prématurés ou plus petits que la normale. Si une femme enceinte infectée n'est pas traitée, elle pourra présenter des avortements à répétition (Arricau Bouvery *et al.*, 2003).

## 2.4. Modalités de l'excrétion de *Coxiella burnetii* et conséquences pour le diagnostic

Lors d'épisodes d'avortement, l'excrétion de l'agent pathogène est importante et peut susciter la contamination des individus naïfs vis-à-vis de la fièvre Q par inhalation, contact direct ou indirect avec les matières virulentes présentes dans l'environnement. Il semblerait que cette excrétion soit plus massive chez les primipares car elles sont plus fréquemment naïves (De Cremoux *et al.*, 2012).

D'après Arricau Bouvery *et al.* (2003), les sources d'excrétion de *Coxiella burnetii* sont nombreuses : urine, fèces, écoulements vaginaux et lait. Dans cette même étude, il a été démontré que l'excrétion fécale avant la mise bas était possible chez certaines chèvres infectées. Cependant, cette excrétion semble discontinue diminuant l'intérêt des fèces comme supports d'analyse pour la mise en évidence de l'agent pathogène. Il a été mis en évidence que cette excrétion fécale pourrait provenir de l'infection du foie et cela pourrait s'expliquer par un passage biliaire de la bactérie. Pour ce qui est des excréctions vaginales, elles débutent du jour de l'avortement ou de la mise bas aux 48 heures qui suivent puis la concentration de *Coxiella burnetii* décroît progressivement jusqu'à devenir nulle ou du moins indétectable par PCR au bout de deux semaines. Dans le lait, cette excrétion ne débute que quelques jours après la parturition et dure en moyenne 24 jours mais certains sujets excrétaient encore en fin d'expérience c'est-à-dire 52 jours après l'avortement. Cette excrétion est là aussi discontinue mais il est possible qu'elle dure très longtemps et qu'elle puisse même être mise en évidence lors des lactations suivantes. Cependant, lors de cette étude, le lait analysé n'était issu que de prélèvements en nombre réduit, il n'y avait pas de traite quotidienne complète ce qui peut fausser les résultats car les bactéries stagnent dans le pis et dans le lait non trait. C'est pourquoi, dans l'étude de Van den Brom *et al.* (2012), l'excrétion dans le lait n'était visible que jusqu'à 40 jours post partum (*p.p.*) environ. Il est à souligner que dans cette deuxième étude, la RT-PCR et l'Elisa étaient utilisées sur lait de tank (au lieu de la PCR seule dans l'étude de Arricau Bouvery *et al.* (2003)) et que les animaux n'ont pas été inoculés comme dans la première étude mais étaient issus de troupeaux présentant des épisodes abortifs.

L'excrétion discontinue dans les fèces et le lait peut être interprétée comme la disparition temporaire de l'agent pathogène du matériel biologique ou comme le fait que la concentration en bactérie soit trop faible pour être détectable par PCR.

Il ne semble pas y avoir de lien entre le moment de survenue de l'épisode abortif au cours de la gestation et la durée d'excrétion. Cependant, il a été mis en évidence qu'une excrétion longue dans les écoulements vaginaux est associée à une excrétion, elle aussi, longue dans le lait. En revanche, la durée d'excrétion fécale ne semble pas avoir de lien avec les autres (Van den Brom *et al.*, 2012). L'excrétion dans l'urine et les écoulements nasaux n'a pas été traitée lors des deux études.

Lors d'une PCR quantitative, l'animal est considéré excréteur lorsqu'on dénombre 500 *Coxiella burnetii* par écouvillon de col. Il s'agit bien d'un seuil d'excrétion et non d'imputation de la clinique à la bactérie (De Cremoux *et al.*, 2012). Par ailleurs, cela permet aussi de différencier une implication de l'agent pathogène dans l'avortement d'une éventuelle contamination du prélèvement.

Aux vues de ces études, il semblerait que les échantillons les plus appropriés pour la mise en évidence de l'agent pathogène soient le placenta, les sécrétions vaginales, les organes du fœtus tels que la rate, le foie, les poumons. Le lait et les fèces pourraient être analysés mais l'excrétion intermittente dans ces échantillons peut être un problème pour la détection de *Coxiella burnetii*. Ces

deux derniers supports peuvent donc être utilisés pour rechercher la présence de la bactérie dans le troupeau mais ils ne permettent pas d'imputer l'avortement à la fièvre Q (Courcoul *et al.*, 2011).

## 2.5. Description des performances des tests diagnostiques disponibles

Pour la recherche fièvre Q, plusieurs analyses sont réalisées. Il s'agit de la PCR, la méthode immunoenzymatique (Elisa), l'IHC, l'Immunofluorescence indirecte (IFI). L'IFI consiste à détecter l'agent pathogène sur des frottis de cotylédons après traitement et observation au microscope à fluorescence pour une identification et un dénombrement. Cependant, il faut distinguer les analyses constituant des examens directs comme la PCR, de tests indirects comme les sérologies car une sérologie positive n'aura qu'une valeur indicative alors qu'une PCR positive sur écouvillon vaginal permettra de mettre en évidence l'imputabilité de l'agent pathogène si un certain seuil de détection est franchi. Certaines analyses sont réalisées individuellement et d'autres en mélange.

Les tests sérologiques sont les plus fréquemment réalisés sur le terrain. Une étude de De Cremoux *et al.* (2012) avait pour but d'évaluer les résultats obtenus par les techniques PCR et Elisa en contexte abortif imputable à de la fièvre Q. Cette enquête a été menée sur 1083 chèvres réparties en trois lots : le lot 1 comptait 405 adultes, le lot 2 comprenait 536 primipares et le lot 3, 276 adultes et primipares. Sur l'ensemble des animaux, la séroprévalence de la maladie était de 45 % et l'excrétion vaginale de *Coxiella burnetii* était massive :  $10^4$  bactéries/écouvillon chez 42,3 % de la population étudiée et  $10^6$  bactéries/écouvillon chez 90,9 % des femelles avortées. Dans cette population d'étude, on ne dénombrait que 31,2 % d'animaux sensibles (séronégatifs et non excréteurs) et parmi ces animaux sensibles, la plupart était des chevrettes (94,7 %). De plus, 43,3 % des chèvres séronégatives excrétaient des bactéries. Par ailleurs, dans le lot de primipares (lot 2) on dénombrait plus d'animaux séropositifs non excréteurs (93,1 % au lieu de 27,6 % dans le lot 1 et 14,3 % dans le lot 3), une excrétion plus forte chez les adultes (75,2 % au lieu de 15,5 % dans le lot 1 et 11,4 % dans le lot 3) et les animaux séronégatifs étaient plus rarement excréteurs (18,2 % au lieu de 49,3 % dans le lot 1 et 57,3 % dans le lot 3). Ceci montre l'importance d'interpréter les sérologies à l'échelle du troupeau afin d'évaluer le niveau d'infection mais cette méthode d'analyse ne peut pas permettre de se prononcer avec certitude sur le statut individuel vis-à-vis de l'infection d'un animal en particulier.

En revanche, la PCR quantitative semble être un outil très intéressant tant pour la définition du statut individuel que pour une analyse du statut du troupeau. En effet, cette technique permet de détecter si l'animal en question est excréteur puisqu'on estime qu'un animal est excréteur s'il héberge au moins 500 bactéries sur un écouvillon vaginal. D'ailleurs, d'après Van den Brom *et al.* (2012), la sensibilité de l'Elisa est de 88,2 % et sa spécificité de 94,6 % par rapport à la PCR.

Afin de minimiser les frais d'analyse, la PCR et l'Elisa ont été testées sur lait de tank dans une étude menée par Van den Brom *et al.* (2012). Cependant, cette matrice n'a pas d'intérêt pour le diagnostic d'avortement, elle n'a d'intérêt que pour l'évaluation de la circulation de la bactérie dans le troupeau. De plus, cette étude avait pour but de comparer les résultats obtenus par les deux méthodes aux statuts sérologiques de troupeaux de chèvres en milieu infecté aux Pays Bas. Sur les 292 échantillons de lait de tank analysés, 92 (32,9 %) avaient un résultat PCR positif et 87 (29,8 %) étaient Elisa positifs. Pour les élevages de brebis, sur 16 échantillons de lait de tank analysés on avait trois (18,8 %) Elisa positifs et aucune PCR positive. À l'issue de cette étude, il semblait que les résultats PCR et Elisa étaient cohérents pour détecter la présence de *Coxiella burnetii* dans des élevages où la prévalence était supérieure à 15 % mais pas pour mettre en évidence un animal infecté en particulier. Il est à noter qu'une PCR positive met en évidence l'excrétion dans le lait de

bactéries à un moment donné mais une PCR donnant un résultat positif sur lait de tank peut n'être due qu'à un faible nombre d'animaux excréteurs. De même, un résultat peut être négatif malgré une excrétion de l'agent pathogène si le lait n'est pas le support d'excrétion (écoulements vaginaux, fèces ...). Au cours de cette étude, il a été mis en évidence que la sensibilité de l'Elisa était de 91 % et la spécificité de 84,3 % par rapport à la PCR.

Le lait de tank semble donc être un échantillon approprié pour mettre en évidence la présence et l'évolution de la dynamique de l'infection par la fièvre Q dans un élevage contaminé mais pas pour faire un diagnostic précis (Van den Brom *et al.*, 2012).

Enfin, lors d'une étude d'Arricau Bouvery *et al.* (2003), 90 chèvres de plus d'un an, indemnes de chlamydie et de fièvre Q, ont été infectées par injection sous-cutanée dans l'épaule à 90 jours de gestation. Ces chèvres ont été regroupées en trois groupes et chaque groupe a reçu une dose différente de *Coxiella burnetii* ( $10^8$ ,  $10^6$  et  $10^4$  bactéries/inoculum). Au cours des analyses, il a été observé que toutes les chèvres ayant avorté avaient des résultats positifs à la PCR et l'Ifi. De même, presque tous les avortons étaient infectés et il n'y avait pas d'effet dose d'inoculation. Les échantillons les plus contaminés, prélevés sur les avortons, étaient le foie (79 % des échantillons contaminés) et les poumons (77 %). Il est à noter que la sensibilité varie de 52,7 à 100 % et la spécificité de 87 à 100 % pour le test Ifi selon le type d'anticorps recherchés et leur concentration (Dupont, Thirion et Raoult, 1994).

Globalement, 95 % des fœtus et des écoulements vaginaux analysés par PCR et Ifi suite à un avortement se sont révélés positifs. Par ailleurs, 67 % des chèvres ayant avorté et excrétaient des *Coxiella burnetii* avaient des résultats négatifs au test Elisa. Ce test était positif pour 91 % des chèvres 80 jours post-inoculation.

Il semblerait donc que la PCR et l'Ifi soient les techniques d'analyse les plus appropriées pour juger de l'infection d'un individu ou d'un troupeau. Cependant, d'après Rousset et De Cremoux (2013), l'Ifi implique une lecture des résultats très dépendante de l'opérateur et est une méthode d'analyse peu reproductible. Par ailleurs, le test Elisa semble être l'analyse sérologique progressivement choisie par les réseaux de laboratoires car elle paraît être la technique la plus économique et la plus automatisable (car moins manipulateur dépendante).

## **2.6. Plan de maîtrise de la fièvre Q : (Acersa, 2007 ; Maaf, 2011 a ; Maaf, 2011 b ; Arrêté du 13 Août 2012 ; De Cremoux *et al.*, 2013 a)**

Dans un élevage, lors de la survenue d'avortements, de mises bas prématurées ou de naissances d'animaux chétifs ou morts nés, la fièvre Q doit faire partie du diagnostic différentiel.

Ce plan vise à mieux proposer un ensemble de recommandations en cas de fièvre Q clinique que ce soit sur un plan méthodologique (nature et mode de prélèvement, choix des méthodes d'analyses) ou sur le plan de gestion de la fièvre Q dans les troupeaux concernés.

Les prélèvements préconisés sont l'écouvillon vaginal, l'écouvillon de placenta en insistant sur les zones nécrosées, les fragments de houppes cotylédonaires recueillies directement dans le tractus génital ainsi que les organes (rate, poumons, foie) et le contenu stomacal des avortons. Lorsque les échantillons sont prélevés, ils doivent être analysés dans les 48 à 72 heures qui suivent et conservés à 4°C durant l'acheminement.

Il est recommandé de faire les prélèvements nécessaires à la réalisation de deux PCR.

Premièrement, il s'agit de prélever deux à six animaux ayant avorté depuis moins de huit jours afin de réaliser deux PCR quantitatives individuelles ou en mélange.

Par ailleurs, dans le cas où un seul prélèvement est effectué pour une recherche par PCR, il convient de réaliser en parallèle des sérologies sur au moins dix animaux du lot de mise bas atteint. Il s'agit donc d'animaux ayant avorté ou ayant présenté une mortinatalité depuis plus de quinze jours à trois semaines. Des animaux ayant mis bas, sans problèmes à la parturition, depuis au moins quinze jours à trois semaines du même lot peuvent aussi être ajoutés au lot d'analyse s'il n'y a pas assez d'animaux atteints dans le lot.

Pour analyser les échantillons de sang, il est conseillé d'utiliser le kit Elisa contenant des antigènes de *Coxiella* plutôt que le kit contenant la souche Nine Mile (isolée sur une tique) car il semble plus sensible pour la détection même si ces méthodes d'analyse sont en perpétuelle évolution et leurs performances sont de plus en plus comparables. Cependant, d'après les études menées, les méthodes de diagnostic direct comme la PCR sont plus sensibles que les méthodes de diagnostic indirect comme la technique Elisa et la fixation du complément.

Malgré cela, le coût des analyses est souvent un argument en défaveur de la mise en place du diagnostic différentiel. Cependant, d'après ce bilan, pour la mise en évidence de fièvre Q à partir de prélèvements effectués sur six animaux, si l'on effectue deux PCR de mélange à partir de six écouvillons, le coût varie de 140 à 240 € Hors Taxe (HT). Or, la sérologie qui est le prélèvement le plus fréquemment réalisé, coûterait 220 € HT pour un diagnostic uniquement basé sur des sérologies effectuées sur au moins six animaux (nombre de prélèvements préconisé dans le plan de maîtrise fièvre Q de l'Acersa pour ces trois mêmes agents. Il semblerait donc que malgré des contraintes plus élevées lors des prélèvements (support adéquat pour les écouvillonnages, conditionnement conforme ...), la PCR de mélange est une méthode plus sensible mais aussi économiquement compétitive pour la mise en évidence d'agents abortifs.

De plus, de nombreuses précautions sont prises pour garantir une meilleure gestion de la fièvre Q clinique. En effet, l'excrétion est majeure lors d'avortements ou de mises bas normales dans un élevage infecté. De même, l'environnement est une source majeure de contamination. D'après ces considérations, il est préconisé de gérer les effluents, le lisier, le fumier, les produits d'avortement et de mise bas. Le lait doit aussi être pris en charge lorsqu'il provient de femelles avortées et ayant des écoulements contaminés. Tout lait infecté ne doit être utilisé que pour l'allaitement et ne doit être ni vendu ni transformé.

La fièvre Q étant une zoonose, la protection du personnel au contact des animaux infectés est primordiale. Le port de gants lors de la mise bas ou de la manipulation de produits d'avortement doit être un réflexe tout comme le port de masque lors de l'épandage de litières contaminées. En effet, d'après Million *et al.*, (2009) et l'Institut national de la recherche scientifique (INRS), la forte infectiosité de la fièvre Q pour l'homme constitue un risque pour les personnes évoluant au contact des animaux (vétérinaire, personnel de laboratoire, éleveurs, personnel des abattoirs).

Lors de la survenue d'une infection à fièvre Q dans un élevage de petits ruminants, la lutte se révèle difficile. L'assainissement de l'environnement semble utopique et implique une modification de la gestion de troupeau (gestion des effluents, traitement des sols et du matériel ...). Des solutions sont proposées comme l'utilisation d'antibiotiques et en particulier de Tétracyclines (Oxytétracycline plus exactement) mais la réponse est jugée très aléatoire et le traitement est long et coûteux (Blain, 2006). De plus, ce traitement a simplement pour but de limiter l'expression clinique, il ne permet pas d'éviter l'infection ni de limiter l'excrétion lors de la mise bas qu'il s'agisse d'un avortement ou de la naissance d'un produit vivant. Par ailleurs, la vaccination contre *Coxiella burnetii* est envisageable. Il existe deux vaccins, l'un contenant des coxielles en phase I et qui possède une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour les bovins, les ovins et les

caprins avec un réel intérêt dans la réduction de l'excrétion dans le lait, les fèces et les écoulements vaginaux, la réduction de la colonisation du placenta par les bactéries ainsi que la protection face au développement des infections à *Coxiella burnetii* ; l'autre, constitué de coxielles en phase II et de *Chlamydophila abortus* dont l'AMM est réduite aux ovins et aux caprins et dont l'efficacité semble remise en cause (Arricau-Bouvery *et al.*, 2005). Il semblerait que l'utilisation de la vaccination dans un troupeau très infecté présente un intérêt très relatif. Cependant, la vaccination peut permettre de protéger des animaux encore naïfs vis-à-vis du pathogène ou *a minima* de réduire l'excrétion. Dans cette optique, la vaccination devra être poursuivie sur quatre générations du cheptel de renouvellement : deux séries vaccinales durant le plan et deux séries à la sortie du plan.

Ce plan a une durée évaluée à deux saisons de mise bas.

Ce plan est pour l'instant proposé dans dix départements : l'Aveyron, les Deux-Sèvres, le Finistère, les Hautes-Alpes, l'Indre-et-Loire, la Loire, la Mayenne, la Nièvre, les Pyrénées-Atlantiques et la Saône-et-Loire (Ministère de l'Agriculture, Arrêté du 13 août 2012 relatif à la constitution d'un dispositif pilote de surveillance de la fièvre Q dans des départements en élevages bovins, ovins et caprins, (2012)). Il s'agit d'une surveillance de la fièvre Q clinique et, lors d'atteintes cliniques imputables à la fièvre Q, des recommandations sont émises et le plan de maîtrise peut être suivi sur la base du volontariat.

**La fièvre Q est donc une zoonose enzootique française dont l'incidence a augmenté depuis 2007. Cette maladie touche les mammifères, les oiseaux, les arthropodes et les reptiles. Chez les animaux, *Coxiella burnetii* est responsable d'avortements en fin de gestation ainsi que de nombreux troubles de la reproduction ou affections du tractus génital. Chez l'Homme, en revanche, la maladie est asymptomatique dans plus de 60% des cas mais peut aussi avoir des répercussions cliniques telles qu'un syndrome grippal avec maux de tête, douleurs musculaires, maux de gorge, nausées, vomissements, malaises voire des troubles hépatiques ou une pneumonie.**

**De plus, le placenta, les sécrétions vaginales, les organes du fœtus tels que la rate, le foie, les poumons semblent être les meilleurs échantillons pour la mise en évidence de *Coxiella burnetii*. D'ailleurs, pour cette mise en évidence, le recours à la PCR et l'Ifi sont préconisés mais le test Elisa semble être cependant l'analyse sérologique de choix dans la plupart des laboratoires français.**

### **3. *Chlamydophila abortus ovis*, agent de la chlamydiose**

#### **3.1. Étiologie**

*Chlamydophila* spp appartient à l'ordre des *Chlamydiales*, la famille des *Chlamydiaceae* et le genre *Chlamydophila*. On notera que l'espèce *Chlamydophila abortus*, anciennement *Chlamydia psittaci* sérotype 1 (Navarro *et al.*, 2004), est la plus rencontrée lors d'avortements chez les petits ruminants et est aussi un agent de zoonose. Par ailleurs, quelques avortements dus à *Chlamydophila pecorum* ont été rapportés mais il semblerait que sa présence dans un troupeau, affecté ou pas par des avortements, soit inapparente. Son impact zoonotique semble réduit aux individus immunodéprimés ou aux femmes enceintes mais cela doit encore faire l'objet d'études (Lenzko *et al.*, 2011).

De plus, *Chlamydophila pecorum* est un agent commensal de l'appareil digestif sans engendrer de troubles pour l'hôte et les techniques Elisa habituelles ne permettent pas de discriminer *C. pecorum* de *C. abortus* ce qui pose un problème. Cependant, d'après une étude menée par Buendía *et al.* (2001), une technique Elisa permettant de différencier *C. abortus* de *C. pecorum* a été mise en place et validée.

Il s'agit d'une bactérie Gram négative, intracellulaire obligatoire qui a pour tissu cible le placenta.

### 3.2. Épidémiologie

Cet agent pathogène est cosmopolite et c'est un agent enzootique d'avortements chez les petits ruminants alors que son incidence reste contestée en tant qu'agent abortif chez les bovins. *Chlamydophila abortus* est un sujet de préoccupation car sa présence entraîne des pertes économiques importantes. Des cas ont été répertoriés aux Etats-Unis, aux Pays-Bas, en Suisse et au Royaume-Uni (Navarro *et al.*, 2004). Enfin, selon une étude de Navarro *et al.* (2009), la chlamydie est l'un des agents abortifs ayant la plus forte prévalence dans les élevages de petits ruminants français et les avortements surviennent en fin de gestation lors d'une infection.

Les brebis adultes se contaminent au contact de produits d'avortement ou de mise bas, contaminés et présents dans les parcs d'élevage ou sur les pâtures. La contamination se fait principalement par voie oro-pharyngée mais peut aussi être respiratoire ou par contact direct (Lenzko *et al.*, 2011 ; Gutierrez *et al.*, 2011).

Des animaux infectés par *Chlamydophila* peuvent présenter des pneumonies, des polyarthrites, des conjonctivites ou encore des entérites. Chez la femme enceinte, une contamination va engendrer un épisode septicémique sévère qui va conduire à un avortement ou la naissance d'un produit mort né (Lenzko *et al.*, 2011).

### 3.3. Physiopathologie de l'infection par *Chlamydophila abortus*

Dans une étude menée par Navarro *et al.* (2004), dix brebis naïves de 12 mois issus d'un troupeau sans antécédents d'avortements depuis cinq ans ont été inoculées par une injection sous-cutanée sur l'épaule droite avec  $10^7$  IFU (Unité Formant des Inclusions) de *Chlamydophila abortus*. Cette infection a été réalisée à 75 jours de gestation pour toutes les brebis. Ces animaux avaient préalablement été testés et étaient séronégatifs aux tests Elisa et de fixation de complément ainsi que négatifs pour *Coxiella burnetii* et *Brucella* lors de cette même fixation du complément. Cette expérimentation avait pour but de définir la cinétique de colonisation du placenta par la bactérie ainsi que celle de la réponse immunitaire par sérologie, immunohistochimie et culture.

Au cours des analyses, il a d'ailleurs été mis en évidence qu'il était impossible d'isoler l'agent pathogène dans les tissus infectés sept jours après l'inoculation malgré le fait que les brebis avortent par la suite. Il semblerait donc que la bactérie soit latente pendant un certain temps après l'infection. Par ailleurs, *Chlamydophila abortus* a été retrouvée par PCR dans les nœuds lymphatiques préscapulaires après l'inoculation mais elle n'a jamais été isolée en culture. On peut supposer que les tissus lymphoïdes soient le lieu de latence de la bactérie. En revanche, le mécanisme d'interruption de la latence est encore inconnu.

Pour l'étude, plusieurs tissus ont été prélevés lors d'autopsies. En effet, des couples de brebis ont été euthanasiés à 105, 120 et 130 jours de gestation et d'autres trois et sept jours post-avortement. Lors de ces autopsies, les scientifiques ont prélevé cinq placentomes et cinq échantillons de tissu prélevés entre les placentomes ainsi que le foie, la rate, les poumons et les nœuds lymphatiques préscapulaires des mères non avortées. Les caroncules et tissus situés entre les caroncules ont été prélevés chez les mères avortées. L'abomasum, le foie, la rate et les poumons ont été prélevés sur les fœtus avant la fin de la gestation et lors d'avortement, le placenta, l'abomasum, le foie, la rate et les poumons étaient analysés.

Les signes cliniques sont frustes. On note ainsi une élévation de la température rectale dans les deux jours qui suivent l'infection (39,2 à 39,4 °C pour les brebis de contrôle et 40,4 à 40,6°C pour les brebis infectées). Hormis cette hyperthermie, seuls des avortements sont à noter. Ces avortements ont eu lieu au bout de 128, 131 et 133 jours de gestation. Ceci confirme le fait que lors d'une infection par *Chlamydophila abortus*, quelque soit le moment de l'infection, les brebis avortent dans le dernier tiers de gestation. Les brebis du groupe contrôle ont mis bas entre 148 et 150 jours de gestation et ont donné naissance à des agneaux de 4,6 à 4,8 kg. En revanche, la seule brebis qui n'a pas avorté a donné naissance à un agneau chétif de 2,8 kg au bout de 140 jours de gestation. Cependant, il a été mis en évidence que les brebis euthanasiées avant le terme de la gestation portaient des fœtus de taille et de poids normaux et qu'elles ne présentaient des organes sans aucune lésion.

En ce qui concerne les lésions, une légère bronchopneumonie interstitielle avec une infiltration de cellules mononucléées et de neutrophiles a été visible sur les brebis infectées euthanasiées à 105 jours de gestation. Les cellules mononucléées présentes dans les alvéoles contenaient des *Chlamydophila abortus*. Ces mêmes infiltrations de cellules mononucléées focales étaient retrouvées dans le foie autour de l'espace porte. Ces lésions sur le foie et les poumons étaient plus discrètes chez les brebis euthanasiées à 120 jours de gestation voire inapparentes à 13 jours de gestation. En revanche, le placenta présentait des lésions chez les brebis autopsiées à 120 et 130 jours de gestation. On avait donc une placentite suppurée avec l'isolement d'antigènes de *Chlamydophila abortus* dans les cellules trophoblastiques des parois de l'allanto-chorion et autour des placentomes. Ces cellules trophoblastiques étaient nécrotiques et la paroi de l'allanto-chorion était ulcérée et couverte de débris cellulaires. De plus, on retrouvait des neutrophiles, des leucocytes dégénérés et une grande quantité d'antigènes de *Chlamydophila abortus* intra et extra-cellulaires dans le mésenchyme placentaire. L'allantochorion quant à lui était oedématié, infiltré par des cellules mononucléaires, quelques neutrophiles et présentait une vasculite et une nécrose fibrineuse. On retrouvait par ailleurs des antigènes d'agent pathogène intra et extracellulaires.

Le placenta maternel était aussi lésé. On retrouvait une nécrose focale de l'épithélium des villosités chorioniques et une infiltration de leucocytes. La paroi entre la mère et le fœtus comportait un exsudat composé de leucocytes dégénérés, de débris cellulaires et d'antigènes de *Chlamydophila abortus*. Cet exsudat était aussi présent dans les cryptes et les villosités chorioniques ainsi que dans des hématomes situés entre le placenta maternel et les villosités du chorion.

Parmi les fœtus de brebis euthanasiées avant terme, seul l'un d'entre eux présentait une hépatite nécrotique multifocale avec infiltration de neutrophiles et d'antigènes de bactérie.

Après le part ou l'avortement, on notait une nécrose du trophoblaste recouverte d'un exsudat inflammatoire suppuratif avec des antigènes pathogènes à la surface des cotylédons et entre les cotylédons. Il y avait par ailleurs une infiltration massive de leucocytes, une thrombose et une vasculite de l'allanto-chorion.

Après le part ou l'avortement, on avait un utérus infecté avec beaucoup d'antigènes pathogènes dans les cryptes de caroncules dégénérées et de nombreux leucocytes dans la paroi. De même, sept jours post partum ou avortement, la surface de l'utérus était partiellement ré-épithélialisée et les

caroncules tout comme le tissu situé entre les caroncules étaient infiltrés de lymphocytes et de cellules plasmiques.

On peut donc voir que les premiers changements microscopiques apparaissent au bout de 120 jours de gestation. Avant cela, à 105 jours de gestation, les brebis présentaient une légère pneumonie interstitielle et une légère hépatite focale qui disparaissent au bout de quelques jours. On peut donc dire qu'il y a une dissémination systémique de l'infection mais que cette infection est en partie contrôlée par le système immunitaire de la brebis. Ce contrôle n'est que partiel puisque les lésions placentaires augmentent par ailleurs. Ces lésions placentaires sont d'abord circonscrites à l'endomètre avec la présence de l'agent pathogène dans des cellules mononucléées puis il y a colonisation et nécrose des cellules trophoblastiques et enfin une placentite nécrotique et suppurative. L'infection du placenta débute donc dans sa partie maternelle.

L'agent pathogène colonise par la suite la part fœtale du placenta et on note alors une infestation des trophoblastes des placentomes et de l'allantochorion autour des placentomes mais pas des trophoblastes inter cotylédonaire. La colonisation des placentomes induit cependant une réponse immunitaire avec l'apparition de nombreux neutrophiles ce qui témoigne d'une réaction maternelle face à l'infection. Cependant, malgré la recrudescence de neutrophiles, on ne note pas de recrutement majeur de lymphocytes T spécifiques ce qui signifie qu'un certain phénomène protège la bactérie de la réponse immunitaire maternelle dans la part fœtale du placenta. Les trophoblastes semblent être le siège de la multiplication et de la dissémination de la bactérie.

Globalement, on a retrouvé de grandes quantités de *Chlamydomphila abortus* dans les cotylédons des brebis avortées et dans les organes des trois foetus avortés :  $10^4$  IFU/g dans l'abomasum,  $10^4$  IFU/g dans la rate et  $4 \times 10^3$  IFU/g dans les poumons de l'un d'eux. Le seul agneau né vivant à l'issue de l'étude était lui aussi infecté avec  $2,2 \times 10^4$  IFU/g dans l'abomasum,  $4 \times 10^3$  IFU/g dans la rate et  $3 \times 10^3$  IFU/g dans le foie et surtout plus de  $10^6$  IFU/g dans les poumons. Cet agneau est d'ailleurs mort d'une insuffisance respiratoire trois jours après sa naissance.

On peut donc dire qu'une colonisation précoce et rapide d'un grand nombre de placentomes induit la destruction de trophoblastes et une perte du contrôle hormonal de la gestation ce qui conduit à l'avortement. En revanche, lorsque la colonisation des placentomes est lente et incomplète, les brebis donnent naissance à des agneaux chétifs, faibles et infectés.

Enfin, aux vues des études réalisées, il semblerait que le placenta, l'avorton et ses organes tels que le foie, la rate et le contenu stomacal ainsi que les écouvillons vaginaux soient les meilleurs supports pour l'identification de *Chlamydomphila abortus*.

Il apparaît par ailleurs le taux de *Chlamydomphila abortus* est fort lors de la première gestation qui suit l'infection chez la brebis mais ce taux diminue significativement par la suite. Les brebis deviennent alors des porteurs chroniques (Livingstone *et al.*, 2009 ; Gutierrez *et al.*, 2011).

### **3.4. Modalités de l'excrétion et conséquences pour le diagnostic**

L'étude de Navarro *et al.* (2004) a permis de définir le mode d'infection des brebis et les lésions provoquées par une telle infection mais elle a aussi permis d'objectiver l'excrétion de l'agent pathogène. En effet, des écouvillons vaginaux ont été réalisés sur les brebis et il s'est avéré que les animaux excrétaient pendant un à trois jours et que cette excrétion diminuait après l'épisode abortif ou la mise bas jusqu'à disparaître dans les cinq à sept jours suivant le part.

Cependant, les écoulements vaginaux ne semblent pas être les seuls supports d'excrétion et donc de dissémination de l'agent pathogène. En effet, dans une étude de Lenkzo *et al.* (2011), des

écouvillons vaginaux (2) et rectaux (1) ainsi que des prises de sang (un à deux jours post partum puis trois semaines plus tard) ont été réalisés sur des brebis évoluant dans un milieu infecté dans l'Etat de Thuringe. Les lots étudiés avaient une séroprévalence estimée à 10 % et une antigénémie estimée à 25 %.

Lors de ces expérimentations, le résultat le plus frappant est que *Chlamydophila abortus* n'était pas la seule espèce isolée. En effet, une PCR en temps réel a été réalisée sur les sérums de 32 lots d'animaux et ces analyses ont mis en évidence la présence de *C. abortus* pour 47 % de ces lots (15/32) mais aussi de *C. pecorum* dans 41 % (13/32), de *C. psittaci* dans 25 % (8/32) et d'une poly-infection dans 31 % des cas (10/32). La présence des trois agents simultanément a été retrouvée dans 9 % des lots.

Sur les écouvillons vaginaux on retrouvait de même 53 échantillons positifs : 28 pour *C. abortus*, deux pour *C. pecorum* et 13 pour *C. psittaci*. Neuf écouvillons étaient par ailleurs positifs pour plus d'une espèce et l'un de ces écouvillons était positif pour *C. suis*.

Sur les écouvillons rectaux on avait 62 échantillons positifs dont 22 pour *C. abortus*, 11 pour *C. pecorum* et 4 pour *C. psittaci*. De la même manière, 25 écouvillons étaient poly-infectés.

Il y a bien une différence significative dans les espèces isolées sur les différents matériaux biologiques.

Par ailleurs, *C. psittaci* a été isolé sur sept placentas et deux écouvillons pharyngés alors que *C. abortus* a été isolée sur neuf placentas, sur tous les avortons et sur ces deux mêmes écouvillons pharyngés.

On avait donc la présence de *C. abortus* dans 50 % des troupeaux testés, *C. pecorum* dans 47 % et *C. psittaci* dans 25 % tout en sachant que 25 % des troupeaux étaient poly-infectés.

*Chlamydophila pecorum* est naturellement rencontré dans le tube digestif des brebis mais on a vu précédemment qu'il pouvait être occasionnellement responsable d'avortement ce qui peut expliquer sa présence sur les échantillons. En revanche, la présence de *C. psittaci* signifie qu'une infection a bien eu lieu et que cette infection pourrait venir d'une contamination par des oiseaux aux alentours. Il pourrait donc y avoir une infection croisée avec les bovins, les petits ruminants et les oiseaux.

Il semblerait donc qu'il y ait une excrétion à la fois par les écoulements vaginaux mais aussi par les fèces ce qui implique que des précautions doivent être prises dans la gestion des excréments et des produits de mise bas dans les troupeaux infectés. Par ailleurs, le rôle de chaque espèce de *Chlamydophila* dans les épisodes abortifs doit être analysé.

### **3.5. Description des performances des tests diagnostiques disponibles**

L'étude réalisée par Lenzko *et al.* (2011) a comparé les résultats sérologiques chez les individus vaccinés et les infectés par la méthode Elisa avec la recherche d'anticorps anti-*Chlamydophila* par l'intermédiaire du CHECKIT Chlamydia Test Kit. Cette technique a une sensibilité variant de 89 à 95 % et une spécificité de 100%. On a considéré, dans cette étude, qu'un lot était positif lors de l'analyse lorsqu'au moins un animal du lot était positif. Il a ainsi été mis en évidence qu'à l'analyse sérologique, 94 % (30/32) des lots étudiés non vaccinés montraient des résultats positifs. Plus précisément, 47 % (15/32) des lots testés étaient en séroconversion c'est-à-dire que leur première analyse sérologique était négative et la seconde s'est révélée positive ou qu'il y a eu une augmentation du taux entre les deux sérologies. Pour ce qui est des animaux vaccinés, tous les lots avaient des résultats sérologiques positifs. De même, à l'analyse des placentas, une brebis était séropositive mais ses analyses PCR étaient négatives ce qui révèle une infection récente ou une vaccination. Pour une autre brebis la sérologie était négative malgré un avortement ; on peut

donc penser que l'infection était aigüe et que l'analyse était réalisée avant la séroconversion. Enfin, une brebis avait des résultats PCR positifs mais une sérologie négative : on peut donc penser à une infection suraiguë ou à un animal en début d'infection.

À l'analyse Elisa en revanche, peu d'animaux vaccinés se sont révélés séropositifs ce qui peut être expliqué par une réaction immunitaire individuelle prioritairement à médiation cellulaire. De même un résultat positif permet de mettre en évidence la présence de *Chlamydophila* dans le troupeau mais ne permet pas d'identifier précisément l'espèce présente.

Par ailleurs, comme cela a été dit précédemment, une étude de Navarro *et al.* (2004) a révélé la capacité de la bactérie à se mettre en latence ce qui implique que pour certaines brebis nouvellement infectées, les résultats PCR et sérologiques sont positifs mais il est impossible de cultiver l'agent pathogène.

De plus, dans l'article de Rodolakis (1988) les différentes techniques utilisées ou utilisables pour la mise en évidence de la chlamydie abortive ont été répertoriées. Cette étude date déjà de 26 ans mais la plupart des informations fournies sont toujours d'actualité. En effet, les techniques sérologiques pour le diagnostic indirect telles que la fixation du complément et l'Elisa étaient et sont toujours les plus répandues. Elles sont faciles d'emploi et permettent l'analyse d'un grand nombre d'animaux bien que l'Elisa soit la plus facile à réaliser des deux (Donn *et al.*, 1997). En revanche, elles ne permettent pas l'identification de l'espèce en cause et ne doivent pas être utilisées pour le diagnostic individuel mais plutôt pour un diagnostic de troupeau afin d'avoir une idée de l'atteinte du cheptel. Par ailleurs, l'Elisa présente l'avantage de distinguer les animaux atteints des vaccinés par la différenciation de classe d'immunoglobulines lors du test. L'autre diagnostic sérologique indirect possible est le diagnostic allergique mais ce dernier n'est pas utilisé car les réactions obtenues sont trop faibles et aléatoires pour être interprétables. Il pourrait être utilisé par intradermo-réaction dans l'encolure chez les chèvres car leur réaction est plus forte mais ceci n'est que très peu réalisable sur le terrain. De même, une intradermo-réaction dans la paupière inférieure des brebis peut permettre un diagnostic puisqu'il semblerait que les brebis qui ne réagissent pas avortent. L'immunofluorescence directe peut aussi être utilisée mais elle n'est pas très automatisable et malgré ses bons résultats elle est peu retrouvée dans les analyses vétérinaires.

Pour ce qui est du diagnostic direct, on dispose de la bactérioscopie, l'Ifi, l'Elisa avec la méthode antigénémique, l'isolement sur culture de cellules et la PCR. La bactérioscopie telle que la coloration à l'Iode et celle de Giemsa ne sont pas très sensibles et presque jamais utilisée. En revanche, la coloration de Stamp est très utilisée mais ne permet un diagnostic que lorsque l'infection est majeure. De plus, elle est très dépendante de la technicité de la personne qui réalise la lecture de la lame mais était encore récemment utilisée pour la recherche de *Brucella*. Elle doit par ailleurs toujours être accompagnée d'une sérologie puisqu'il n'est pas possible de faire la différence entre *Chlamydophila* et *Coxiella* par la seule observation du frottis coloré. Elle peut donc être un complément ou servir pour orienter un diagnostic mais l'identification de l'agent pathogène ne peut

pas reposer sur cette seule technique. Pour la PCR la sensibilité et la spécificité de la technique sont supérieures à 95 %.

L'Ifi est rarement utilisée car elle implique une lecture au microscope et malgré une sensibilité plus importante que celle de la culture sur cellules, des interférences avec *Staphylococcus aureus* peuvent fausser le résultat. L'Elisa quant à elle est beaucoup plus reproductible que la technique de l'IFI car elle n'implique pas de lecture au microscope et permet une mise en évidence de l'agent pathogène sur des écouvillons vaginaux de chèvres ou de brebis. Elle a l'inconvénient d'avoir elle aussi des résultats faussés par la présence de *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, l'Ifi et l'Elisa peuvent être utilisées pour le typage de souches isolées et la différenciation de souches virulentes invasives et de souches avirulentes non invasives mais cela implique l'isolement de l'agent pathogène et la bactérie survit mal dans les prélèvements et le milieu extérieur.

De plus, la culture sur cellules est basée sur deux propriétés : la formation de plages de lyse ou la coloration d'inclusions cytoplasmiques. La culture doit être réalisée à partir d'un écouvillon vaginal car c'est le support le plus infecté et il n'est pas cytotoxique ce qui ne fausse pas le résultat. Cependant, cette technique implique la manipulation de l'agent pathogène et sa mise en culture alors que la bactérie résiste très mal.

Enfin, la PCR permet une détection à partir de  $10^5$  à  $10^6$  molécules d'ADN / échantillon. Cette méthode est la plus sensible et semble être la plus fiable mais elle demande un délai d'au moins 24 heures pour pouvoir interpréter les résultats.

On peut donc dire que l'Elisa, la PCR, l'Ifi et la fixation du complément sont les techniques les plus fiables pour la mise en évidence de *Chlamydomphila abortus*. Cependant, seule la technique PCR semble être utilisable pour un diagnostic individuel fiable. Les autres techniques doivent être utilisées pour du diagnostic de troupeau ou communément pour aboutir à un diagnostic individuel.

**La chlamydiose est une zoonose abortive ayant la plus forte prévalence dans les élevages de petits ruminants français.**

**Chez les animaux infectés, la maladie entraîne des avortements en fin de gestation et peut aussi conduire à l'apparition de pneumonies, polyarthrites, conjonctivites ou encore entérites. Par ailleurs, chez la femme enceinte, une contamination donnera lieu à une septicémie sévère qui sera à l'origine d'un avortement.**

**De plus, le placenta, l'avorton et ses organes tels que le foie, la rate et le contenu stomacal ainsi que les écouvillons vaginaux soient les meilleurs supports pour l'identification de *Chlamydomphila abortus*. De même, l'excrétion étant prépondérante dans les écoulements vaginaux et les fèces, des précautions devront être prises lors de leur manipulation.**

**Enfin, l'Elisa, la PCR, l'Ifi et la fixation du complément sont les techniques les plus fiables pour la mise en évidence de l'agent abortif mais seule la PCR est fiable pour un diagnostic individuel.**

## 4. *Salmonella* Abortusovis, agent de la salmonellose

### 4.1. Étiologie

Cette bactérie appartient à la famille des Enterobacteriaceae, à l'espèce *Salmonella enterica* et plus précisément à la sous-espèce 1 *Salmonella enterica* Abortusovis. Il s'agit d'une bactérie Gram négative aéro-anaérobie (Arquié, 2006).

Cet agent pathogène est atypique car sa croissance sur gélose est lente ce qui peut s'expliquer par une perméabilité insuffisante de la bactérie aux nutriments ou une nécessité de facteurs de croissance pour son développement.

### 4.2. Épidémiologie

En France, plus de 95 % des salmonelloses ovines sont dues à *Salmonella* Abortusovis. Plus particulièrement, dans le Sud-Ouest de la France, plus de la moitié des avortements en série sont attribués à cet agent pathogène. Il s'agit d'un sérotype pathogène pour les animaux vertébrés à sang chaud (Pardon *et al.*, 1988).

Il a d'ailleurs été prouvé que 83 % des entérites diagnostiquées chez l'Homme en Espagne étaient dues à des salmonelles et qu'elles étaient transmises par la nourriture. De plus, leur mise en évidence est croissante chez les animaux et en fait l'agent abortif majeur chez les ovins en Espagne de 1996 à 2001 (Martin-Atance *et al.*, 2012). D'après l'Institut de Veille Sanitaire (2004), en France, les salmonelles seraient responsables de 33,4 à 70,9 % des toxi-infections alimentaires d'origine bactérienne chez l'Homme.

La transmission de la bactérie a lieu majoritairement lors de la saison de mise bas. La contamination par contact direct est mal connue et celle par voie vénérienne semble négligeable. Il semblerait que la transmission à l'agneau soit possible selon diverses voies : par les sécrétions respiratoires (Martin-Atance *et al.*, 2012), par le lait contaminé, par contact avec la mamelle ou lors du part. Lorsque la contamination de l'agneau a lieu en pré ou périnatal, si le produit survit il peut alors être porteur sain jusqu'à sa puberté ce qui peut poser un problème dans la gestion de l'élevage avec un maintien d'une pression pathogène.

De plus, cette transmission peut être indirecte par l'intermédiaire de locaux, matériels, aliments, boissons, pâtures ou véhicules contaminés par l'agent pathogène.

Enfin, lorsque des chiens ou des rats ingèrent des produits infectés issus d'un avortement par exemple, ces animaux hébergent la bactérie de façon transitoire. Les modes de contamination sont donc nombreux (Pardon *et al.*, 1988).

Par ailleurs, ces cas de salmonelloses qui interviennent dans un troupeau peuvent avoir de graves conséquences pour l'élevage. Ainsi, suite à un avortement tardif, la brebis avortée sera alors improductive pendant la saison sexuelle en cours sauf si un protocole de désaisonnement hormonal est tenté. De même, un épisode abortif engendre la perte de l'agneau, l'absence ou la diminution de la production laitière associée à la mise bas, une rétention placentaire pouvant conduire à une infertilité voire une septicémie, une dépréciation du troupeau ainsi que des contraintes dans la conduite d'élevage. La mise bas est la principale manifestation de l'infection et elle survient généralement dans la deuxième moitié de la gestation mais des avortements plus précoces ne peuvent pas être exclus. En cas d'épidémie, plus de 50 % des avortements touchent les animaux dans leur première gestation et le troupeau de renouvellement.

Il ne semble pas qu'il y ait de portage intestinal de *Salmonella Abortusovis* (Pardon *et al.*, 1988).

Pour finir, il semblerait qu'une forte densité d'animaux dans le troupeau augmente les risques de contamination. De même un changement de la qualité ou du rythme de la ration alimentaire, une interaction avec des parasites intestinaux ou hépatiques pourraient être des facteurs prédisposants. De plus, dans les régions d'élevage pratiquant la transhumance, on retrouve une saisonnalité des épisodes abortifs provoqués par le contact entre animaux au cours du transport et par le mélange d'agnelles naïves vis-à-vis de l'agent pathogène avec des adultes pouvant être porteurs (Pardon *et al.*, 1988).

#### **4.3. Physiopathologie de l'infection par *Salmonella Abortusovis***

Dans un troupeau infecté, on remarque que les avortements interviennent préférentiellement chez les agnelles et les brebis naïves nouvellement introduites dans le cheptel. Par ailleurs, lorsque la salmonellose apparaît dans un troupeau sain, on peut compter des avortements chez 60 % des brebis gravides. De plus, lorsqu'un troupeau sain se contamine au contact de pâtures infectées ou lors de l'introduction d'un animal porteur dans le cheptel, on observe un phénomène abortif d'allure épizootique. Par la suite, l'affection devient enzootique et l'on ne rencontre alors que quelques événements abortifs ponctuels ou des séries pluriannuelles.

Plus précisément, la contamination des animaux par des salmonelles a lieu au niveau des muqueuses de la région céphalique (bouche, nez, œil) puis les bactéries accèdent au rumen. On observe alors une colonisation des nœuds lymphatiques rétropharyngiens avant même la mise en évidence d'une dissémination systémique à l'analyse bactériologique.

Il a été mis en évidence qu'une inoculation orale ou intra-gastrique par *Salmonella Abortusovis* provoque irrégulièrement un avortement. En revanche, l'infection par voie conjonctivale semble improbable et l'inoculation par voie intra-vaginale de la bactérie provoque une prolifération de l'agent pathogène dans le vagin (bactériologie sur écouvillons vaginaux positive pendant 18 à 27 jours) mais n'engendre pas d'atteinte utérine.

Une inoculation intraveineuse (IV) semble être suivie d'une multiplication des bactéries dans la rate. Le taux maximal d'agents pathogènes est d'ailleurs atteint neuf jours post-inoculation.

Lorsque l'inoculation a lieu par voie sous-cutanée, on observe une colonisation des nœuds lymphatiques locorégionaux, de la rate et du foie avec un taux maximal de bactéries atteint sept jours après l'infection. Ce taux est ensuite décroissant et devient indétectable ou nul au bout de deux semaines environ mais les bactéries persistent plus longtemps dans les nœuds lymphatiques locaux. Une bactériémie n'était détectable que durant trois à six jours après l'infection et cette période correspondait au taux sérologique maximal obtenu par séroagglutination en tube avec l'antigène H dans l'étude de Sanchis et Pardon (1984). Ceci signifie que l'hôte réagit à l'infection et prévient ou limite la dissémination de la bactérie ce qui pourrait être un moyen pour l'animal d'éviter une contamination génitale et ainsi un avortement ou la naissance de produits chétifs.

Un test a été réalisé sur des brebis gravides inoculées avec  $10^9$  bactéries/inoculum en IV. Il est alors apparu que suite à l'injection, les bactéries sont captées en quelques dizaines de minutes et ce pendant plusieurs heures. Le nombre de salmonelles dans le sang augmente ensuite et ceci semble dû à un relargage par les tissus infectés (rate, foie et poumons en particulier). Lorsque l'organisme n'est pas capable de gérer ce relargage, l'animal entre dans une phase septicémique. Elle se caractérise notamment par une diminution de la température rectale et cette nouvelle température corporelle correspond à la température optimale de croissance de la bactérie. Cette phase septicémique précède fréquemment la mort de l'animal et peut s'accompagner d'un épisode diarrhéique. De plus, d'après Martin-Atance *et al.* (2012), les animaux peuvent non pas mourir de la septicémie mais de ses complications comme l'anorexie, la métrite aiguë, l'entérite, la péritonite, qui résultent de la rétention placentaire, dans 5 à 7 % des cas.

En revanche, l'avortement n'implique pas forcément une infection utérine. En effet, l'hyperthermie ou l'endotoxémie qui surviennent lors d'une bactériémie peuvent suffire à provoquer une mise bas anormale. Néanmoins, dans la majorité des cas, l'avortement fait suite à une colonisation placentaire par les bactéries et à une multiplication locale massive. Cette multiplication est favorisée par le fait qu'une gestation soit associée à une immunosuppression locale : un faible nombre de bactéries suffit donc à coloniser l'interface fœto-maternelle.

Chez le fœtus, la contamination a lieu par voie transplacentaire ou hématogène. Elle est souvent suivie d'une mort *in utero* mais l'agneau peut tout de même naître vivant à terme ou prématuré. Cependant, selon Martin-Atance *et al.* (2012), ces agneaux nés vivants meurent le plus fréquemment dans les heures qui suivent leur naissance ou dans leur premier mois de vie des suites d'entérite, de pneumonie ou de polyarthrite.

Par ailleurs, lorsque les animaux sont contaminés hors gestation, on observe une guérison bactériologique en quelques semaines à quelques mois. Il en est de même avec les brebis avortées. Le portage de *Salmonella Abortusovis* crée le débat parmi les auteurs, pour certains c'est un phénomène rare et difficilement démontrable, pour d'autres, cela est fréquent (Pardon *et al.*, 1988).

De plus, cette infection est le plus souvent asymptomatique chez les femelles non gravides et les béliers (Martin-Atance *et al.*, 2012).

Une autre étude menée par Sanchis et Pardon (1984) avait pour but d'étudier l'influence du stade de gestation des brebis dans leur réaction à une infection. Ainsi, 30 brebis ont été réparties dans 3 lots respectivement inoculés 37 jours avant la fécondation (lot 1), 33 jours (lot 2) et 89 jours (lot 3) après la lutte. Ces brebis étaient issues de troupeau indemne de Salmonellose et ont été inoculées avec 1 010 *Salmonella Abortusovis* / inoculum en sous cutané. Les premiers signes mis en évidence étaient un abattement et une dysorexie modérée dans les 15 jours qui ont suivi l'infection. On notait par ailleurs une hyperthermie dans les 48 heures suivant l'injection. On a alors répertorié huit avortements sur dix brebis du lot 3, un seul pour le lot 2 et aucun pour le lot 1. Dix-neuf gestations ont été menées à terme et sur les 24 agneaux nés vivants, sept sont morts dans les huit jours. De plus, tous les placentas libérés à terme et les agneaux nés vivants qui sont morts dans les huit jours suivant la naissance étaient négatifs à la bactériologie. Les brebis euthanasiées trois mois après le terme prévu étaient indemnes de salmonelles. En revanche, toutes les brebis mortes des suites d'une rétention placentaire avaient des prélèvements positifs aux salmonelles.

On peut donc voir que la probabilité qu'un avortement survienne après une infection avant la fécondation ou en début de gestation est faible. Elle est cependant très forte lorsque l'injection intervient dans la deuxième moitié de la gestation. Ceci peut résulter du statut immunitaire de la brebis gestante qui pourrait favoriser une réactivation d'infections latentes en plus de faciliter la multiplication bactérienne comme cité précédemment.

Il semblerait que plusieurs causes d'avortements puissent coexister avec la salmonellose à *Salmonella Abortusovis* dans une même région, un même élevage voire chez un seul animal (Pardon *et al.*, 1988).

En revanche, cette bactérie ne serait pas capable de provoquer des avortements chez les animaux sauvages. De même, la contamination d'autres mammifères que les ovins est discutée puisque seuls des souris et des lapins ont été infectés expérimentalement et on décrit l'infection occasionnelle de chèvres ou de lapins. En effet, la bactérie a été isolée sur de nombreuses espèces de ruminants vertébrés sauvages mais sa présence ne signifie pas que ces animaux souffrent de salmonellose (Martin-Atance *et al.*, 2012).

#### **4.4. Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic**

Pour la salmonellose à *Salmonella Abortusovis* comme pour bon nombre de maladies abortives, les produits de mise bas sont les principaux facteurs d'excrétion. En effet, tous les composants du contenu utérin sont virulents.

On observe une excrétion massive lors de la mise bas mais cela régresse quelques temps après. La bactériologie sur écouvillons vaginaux peut être positive une semaine à un mois après la parturition. En revanche, cette excrétion peut être aiguë lors d'une rétention placentaire ou chez l'agneau avorté puisqu'il héberge des salmonelles dans tous ses organes. Ce phénomène aigu varierait de neuf à dix-neuf jours selon les brebis d'après Sanchis et Pardon (1984).

L'excrétion fécale est un sujet de débat entre les auteurs. Certains la considèrent irrégulière et peu fréquente (Sanchis et Pardon (1984)), pour d'autres elle est nulle et indétectable. Elle n'interviendrait que lors de complications septicémiques qui font suite à une rétention placentaire.

L'excrétion lactée, majoritairement réduite au colostrum, est observée chez quelques animaux.

Enfin, il semblerait qu'il y ait une faible proportion de porteurs sains lors de cas de salmonellose (Pardon *et al.*, 1988). Cependant, selon Sanchis et Pardon (1984), ces animaux pourraient être porteurs durant plusieurs mois mais ils sont très peu nombreux puisque il y aurait une guérison bactériologique très fréquente dans les trois à neuf mois qui suivent l'avortement.

Des anticorps spécifiques de *Salmonella Abortusovis* ont été retrouvés chez le mouflon et les daims de la réserve de Serrania de Cuenca en Espagne ce qui signifie que ces populations ont été infectées et qu'elles pourraient être des porteurs chroniques capables de disperser l'agent pathogène et de maintenir une pression sur le territoire si rien n'est fait. Ainsi, lors de la réalisation du test de séroagglutination sur l'antigène H, on obtenait une réponse immunitaire sur 75 % des sérums de mouflons, 74,39 % des sérums ovins, 54,76 % de ceux des daims, 30 à 66 % des sérums bovins mais sur aucun des sérums de cerf (Martin-Atance *et al.*, 2012).

#### **4.5. Description des performances des tests diagnostiques disponibles**

Pour la recherche de *Salmonella Abortusovis*, les laboratoires disposent de nombreuses analyses. Il s'agit tout d'abord d'analyses sérologiques comme l'agglutination en microplaques, l'hémagglutination, la fixation du complément, l'immunofluorescence, l'opsonisation, la précipitation en gel, le test à l'antigène coloré, le lactodiagnostic et le test immunoenzymatique. Parmi ces méthodes d'identification, l'agglutination en microplaques avec l'utilisation d'antigènes colorés est la plus utilisée. L'antigène O est l'antigène de la paroi cellulaire alors que le H est flagellaire. Elle permet la mise en évidence des seuls anticorps anti-agglutinines H qui ont des taux plus élevés que les anticorps anti-agglutinines O avec une précocité et une persistance équivalente et (Sanchis et Pardon, 1984 ; Martin-Atance *et al.*, 2012). Par ailleurs, d'après l'Institut de biologie clinique de l'Université libre de Bruxelles (2009), l'agglutination O persisterait moins longtemps et serait plus spécifique d'une infection récente que l'agglutination H.

Ce test d'agglutination doit être réalisé dans les semaines qui suivent l'avortement sur cinq à dix brebis avortées et permet alors une présomption d'infection à l'échelle du troupeau. Cette

analyse ne permet donc pas de définir le statut individuel d'un animal vis-à-vis de la maladie. En effet, il a été mis en évidence qu'en Espagne, alors qu'en 2004 100 % des troupeaux étaient positifs au test à l'agglutination avec une séroprévalence de 4,3 à 22 %, ces cheptels infectés n'étaient plus que 33,33 % en 2005 avec une séroprévalence située entre 1,06 et 7,9 % (Martin-Atance *et al.*, 2012). Par ailleurs, cette technique est plus adaptée pour la détection d'une infection récente car l'immunoglobuline la plus active dans ce test est l'Immunoglobuline M (IgM). De plus, d'après Martin-Atance *et al.* (2012), il semblerait que, dans une région où la prévalence de la bactérie est forte, la séroconversion soit plus fréquente chez les jeunes animaux que chez les adultes mais aussi plus rencontrée chez les mâles que les femelles.

L'autre méthode utilisable est l'analyse bactériologique malgré le fait que *Salmonella Abortusovis* se développe lentement sur milieu de culture (36 à 48 heures) (Pardon *et al.*, 1988). Ainsi, la bactérie pourrait être isolée avec ou sans enrichissement préalable sur milieu de culture usuel (gélose nutritive, gélose Mueller-Hinton, gélose au sang, gélose chocolat ...) à partir d'avortons ou sur milieux spécifiques (gélose *Salmonella-Shigella* ou gélose S.S., gélose au désoxycholate-citrate, gélose au vert brillant, gélose SM ID...) à partir d'enveloppes fœtales ou écouvillons vaginaux (Sanchis et Pardon, 1984).

D'après Martin-Atance *et al.* (2012), l'isolement et l'identification de la bactérie en lien avec les signes cliniques pourtant non pathognomoniques est l'analyse de base. En effet, la séroagglutination en microplaques ne permet de donner qu'un statut global du troupeau mais pas de faire un diagnostic individuel de qualité.

Le titre en anticorps décroît en quelques semaines et cette chute rapide après l'avortement laisse penser que la recherche en anticorps doit se limiter à la réalisation d'un sondage sérologique dans les six à huit semaines qui suivent l'épisode abortif. Ce dosage anticorps ne semble pas avoir d'intérêt pour établir un diagnostic tardif d'avortement (Sanchis et Pardon, 1984 ; Martin-Atance *et al.*, 2012).

Enfin, la technique PCR semble être un outil adapté à la détection d'ADN de *Salmonella Abortusovis* plus sensible que la culture bactériologique. En effet, pour l'analyse d'un échantillon, la culture peut se révéler négative et la PCR positive. L'incapacité à cultiver des bactéries sur gélose peut s'expliquer par la présence d'*Escherichia coli* dans l'échantillon et cette dernière bactérie est capable d'inhiber la croissance des salmonelles *in vitro* (Belloy *et al.*, 2009).

**En France, plus de 95 % des salmonelloses ovines sont dues à *Salmonella Abortusovis* mais la prévalence de cet agent abortif varie selon les régions. En effet, plus de la moitié des avortements en série sont attribués à cet agent dans le Sud-Ouest.**

**La principale manifestation de l'infection est la survenue d'avortements dans la deuxième moitié de la gestation mais épisodes plus précoces peuvent survenir. Les agneaux se contaminent par voie hématogène *in utero* ce qui implique l'infection de l'ensemble des organes du fœtus. De plus, l'excrétion a une durée très variable est les supports d'excrétion font encore débat selon les auteurs (fèces, écoulements vaginaux ...).**

**Enfin, la technique PCR semble être l'outil de choix pour la détection et le sérotypage de *Salmonella Abortusovis*.**

## **5. BDV, agent de la Border Disease ou « Pestivirus ovine » ou « Maladie de la frontière »**

Le virus de la Border Disease (BD) ou « Aveyronnite » ou encore « Pétèga ovina » cause des problèmes de reproduction chez les petits ruminants. Il est d'ailleurs très présent en Espagne et notamment dans la région du Pays Basque (Hurtado *et al.*, 2009). Cependant, il n'est pas le seul virus à pouvoir être mis en cause lors d'avortements, de malformations ou de problèmes lors de la gestation. En effet, beaucoup d'analyses ne permettent pas de différencier le BDV du virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVDV). Ce second virus pourrait lui aussi causer des problèmes de reproduction chez les petits ruminants même s'il n'est répertorié que chez les bovins sur le terrain actuellement (Broaddus *et al.*, 2009).

### **5.1. Étiologie**

Le virus de la Border Disease tout comme celui du BVD sont des Pestivirus, petit virus à Acide ribonucléique (ARN), qui appartiennent à la famille des Flaviviridae. Ces virus touchent de nombreuses espèces comme les ongulés, les bovins, les porcs, les ovins et les ruminants sauvages. Le genre Pestivirus compte quatre espèces principales : le BVDV de génotypes 1 et 2, le BDV et le Virus de la Peste Porcine Classique (CSFV) (Broaddus *et al.*, 2009).

### **5.2. Épidémiologie**

Cette maladie est apparue en France en 1983 dans le bassin de Roquefort. Elle a alors causé d'énormes pertes dans les élevages ovins aveyronnais avec la mort de 1 501 brebis et 23 908 agneaux en six mois. Suite à la mise en place de sérologies de dépistage, la prévalence de cette maladie est passée de 20 % en 1998 à 4 % en 2005. Cependant, l'incidence de la Border disease a à nouveau progressé avec une séroprévalence de 9,3 % en 2010 toujours dans l'Aveyron. Par la suite, de nouveaux cheptels séropositifs ont été détectés en Aveyron et au Pays Basque en 2011 (Meyer *et al.*, 2012).

Le recours à la vaccination a permis de lutter efficacement contre la Border disease. En effet, l'administration de vaccin permet d'éviter l'apparition de formes cliniques, de réduire l'excrétion et de limiter la naissance de produits IPI. Cependant, aucun vaccin ne dispose d'une AMM pour les ovins et aucun protocole vaccinal n'a encore été établi, ce qui rend la lutte plus complexe (Meyer *et al.*, 2012).

De plus, suite au séquençage des pestivirus retrouvés sur le terrain, il a été établi que trois génotypes coexistaient en France : les BDV-3, 5 et 6. Cependant, aucune étude scientifique n'a permis de déterminer un éventuel lien entre la diversité génétique et le pouvoir pathogène (Meyer *et al.*, 2012).

### 5.3. Physiopathologie de l'infection par le BDV et le BVDV

Chez les ovins, une infection par le BDV au début ou dans la première moitié de la gestation provoque des avortements, la mise bas de morts nés ou de produits non viables ou malformés. En effet, dans une étude menée par Broaddus *et al.* (2009), des brebis ont été infectées par le génotype 4 de BDV. A l'issue de cette expérimentation, 32 % des agneaux étaient morts nés et avaient un poids et une taille inférieurs à la normale et 20 % étaient normaux. Les produits nés anormaux présentaient des tremblements, une démarche anormale, une incapacité à se tenir debout et des anomalies du squelette telles que le brachygnathisme, le prognathisme et l'arthrogrypose.

De plus, comme cela a été mis en évidence dans une étude de Hurtado *et al.* (2009), une infection durant le développement embryonnaire ou fœtal peut conduire à la naissance d'individus infectés permanents (IPI) qui vont excréter le virus et entretenir la contamination de l'élevage. Cependant, toujours d'après l'étude, il semblerait que la naissance d'Ipi soit possible après une infection à tout stade de gestation.

De ce point de vue, on retrouve une pathogénie similaire pour les ovins et les bovins et cela se retrouve après l'infection de brebis gestantes par l'intermédiaire de génisses porteuses de BVDV-2 (Broaddus *et al.*, 2009).

Dans une étude menée par Broaddus *et al.* (2009), des brebis ont été mises au contact de génisses infectées par le virus de la BVD de génotype 2 à différents stade de la gestation : de 55 à 60 jours, de 65 à 70 jours et de 120 à 125 jours de gestation. On a alors observé que lorsqu'une brebis gestante était infectée, le fœtus pouvait être à son tour infecté par voie transplacentaire et on distingue une manifestation de la contamination chez le fœtus alors que la mère lutte contre le virus grâce à l'activité de son système immunitaire. Ainsi, on retrouve le virus dans les placentomes 7 à 36 jours et dans les fluides et tissus fœtaux de 10 à 28 jours post-infection. Les lésions apparaissent sur le fœtus entre 21 et 36 jours après inoculation et l'on note alors des pétéchies cardiaques, des hémorragies, un hémopéritoine et/ou une placentite ulcéralive sévère.

Par ailleurs, chez les brebis inoculées de 55 à 60 jours de gestation, on obtient 77 % d'avortements ou d'agneaux morts nés. Ces phénomènes sont retrouvés pour 67 % des brebis inoculées de 65 à 70 jours de gestation. En revanche, les mères infectées tardivement donnent naissance à des produits paraissant sains séropositifs et vironégatifs.

De plus, d'après cette même étude, des chèvres ont été inoculées par injection intramusculaire de virus de la BVD et on observe alors des avortements sans de réelles lésions associées mais avec des modifications histologiques étendues dans le cerveau (encéphalite, nécrose et dysplasie cérébrale). On a ensuite mêlé des chèvres gestantes avec des génisses Ipi à divers stades de gestation et on a alors eu 50 % d'avortements ou de mise bas de chevreaux morts nés ou qui ont succombé dans les deux premières heures de vie. Pour 13 % des chèvres, leurs chevreaux étaient incapables de se développer et sont morts dans leurs 36 premières heures de vie. Ainsi 100 % des

chèvres mises au contact d'Ipi à 41 jours de gestation ont avorté. Celles infectées à 60 jours ont eu une gestation longue et 13 d'entre elles ont avorté de 144 à 149 jours de gestation de chevreaux morts nés ou non viables. Une infection à 82 jours de gestation a provoqué des problèmes pour deux chèvres : avortements ou agneaux morts quelques heures après la naissance. À 97 jours, une chèvre a avorté à 131 jours de gestation, une a donné naissance à un agneau qui n'était pas viable et une est morte de lipidose hépatique à 120 jours de gestation. À 118 jours, toutes les chèvres ont avorté ou ont donné naissance à des produits non viables et à 139 jours de gestation aucun avortement n'a été répertorié.

Ainsi, sur les 29 chevreaux autopsiés, 19 étaient positifs aux analyses réalisées (IHC, PCR, séroneutralisation ou isolement du virus). Pour ces 19 chevreaux on avait alors une placentite, une momification fœtale, deux agneaux brachygnathes et deux prognathes, une péritonite fibrineuse, un agneau avec hydrothorax et ascite, un avec des hémorragies pulmonaires, un avec une kératite unilatérale et un avec une bronchopneumonie. Des lésions histologiques étaient aussi visibles telles qu'une placentite pour deux des agneaux avec des lésions nécrotiques de l'épithélium trophoblastique, des infiltrations mononucléaires et une nécrose des vaisseaux profonds du stroma. De plus, cinq agneaux avaient une déplétion thymique dont la sévérité variait selon l'individu, quatre avaient une myocardite avec une infiltration lymphohistiocytaire multifocale et des foyers de nécrose et six n'avaient aucune lésion histologique. En revanche, pour cinq des dix-neuf agneaux, on observait des lésions cérébrales telles qu'une inflammation du plexus choroïde (3/19), une encéphalite (2/19), des nodules gliaux multifocaux (1/19) et une infiltration multifocale de lymphocytes, macrophages et cellules plasmatiques dans le stroma du plexus choroïde (3/19). Par ailleurs, chez ces chèvres, c'est bien le BVDV qui a été isolé et ce virus était identique à celui mis en évidence chez les génisses.

Lors d'une autre étude, 25 chèvres ont été inoculées en intra-nasal ou en sous-cutané par le BVDV et on a alors eu 22 avortements ou morts nés et la principale lésion observée était la leuco-encéphalo-malacie. D'autre part, 50 chèvres ont été inoculées par injection Intramusculaire (IM) et sur 23 chevreaux on retrouvait une nécrose de la matière blanche avec prolifération cellulaire, une dysplasie cérébrale et une couverture lymphocytaire péri-vasculaire. Une telle étude a aussi été menée par Garcia-Perez *et al.* (2009) sur 67 agneaux issus de brebis infectées par injection IM de BDV. On avait alors 45 % (30/67) des fœtus présentant des lésions compatibles à la BD. Parmi cela, 30 avaient des lésions réduites au système nerveux central avec 43 % d'hypomyélinisations (13/30), 33 % de gliosites (10/30), 30 % de spongites (9/30) et 17 % de vasculites (5/30). De plus, 31 % des fœtus étaient autolysés (21/67) et 24 % n'avaient pas de lésion (16/67).

Enfin, deux chevreaux et deux agneaux infectés naturellement présentaient une hypomyélinisation focale, une déplétion des lymphocytes médullaires thymiques et une prolifération des cellules réticulaires.

Il semble donc que des bovins infectés par le BVDV puissent infecter des petits ruminants gestants et provoquer des problèmes de reproduction identiques à ceux de la Border Disease. De

plus, l'immunocompétence des chèvres se développe entre 80 et 100 jours de gestation ce qui signifie qu'une infection précoce ne pourra pas être contrôlée par la mère et provoquera l'infection du petit. Malgré cela, des mères infectées tardivement peuvent tout de même donner naissance à des produits infectés (Broaddus *et al.*, 2009).

Par ailleurs, le virus de la Border Disease semble se répliquer dans les placentomes des brebis dès 55 à 60 jours de gestation et il est alors régulièrement isolé dans le placenta. Il va ensuite infecter les membranes de l'amnios et de l'allantoïde (72 heures post-inoculation intra-nasale d'après et ainsi conduire à l'infection du fœtus 10 jours après inoculation d'après Broaddus *et al.* (2009)). De plus, dans le fœtus infecté, le virus va provoquer des lésions sévères dans le système nerveux central et les organes lymphopoiétiques notamment mais aussi dans les poumons, la peau, le foie ... (Hurtado *et al.*, 2009)

Enfin, d'après Hurtado *et al.* (2009), le virus de la Border Disease n'infecte pas forcément tous les produits présents dans l'utérus. En effet, des brebis gestantes de jumeaux ou triplés ont donné naissance à des petits qui n'avaient pas tous le même statut vis-à-vis de l'infection : l'un séronégatif mais viropositif alors que l'autre est séropositif et viropositif ; l'un séropositif et vironégatif, l'autre séropositif et faiblement viropositif et le dernier très fortement séro et viropositif. Les mêmes observations sont faites chez les bovins avec le BVDV.

#### **5.4. Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic**

Pour cette maladie, il y a deux modalités d'excrétion. La première correspond aux produits de mise bas ou d'avortement (fœtus, liquides allantoïde ou amniotique, écoulements vulvaires ...) et la seconde vient de la présence d'animaux Ipi dans l'élevage. Ces Ipi sont excréteurs tout au long de leur vie et perpétuent la contamination d'un troupeau.

De même, il a été mis en évidence dans l'étude de Garcia-Perez *et al.* (2009) qu'un bovin Ipi par le virus de la BVD pouvait être responsable de l'infection de petits ruminants gestants. Il y a donc un passage entre espèce possible. D'ailleurs, dans l'étude de Broaddus *et al.* (2009), 19 avortons de chèvre ainsi que les placentas ont été analysés et le virus BVDV a été mis en évidence par IHC sur le placenta, le cœur, le cerveau et le thymus de 12 des 19 échantillons analysés. De même, le virus a été isolé sur deux chevreaux qui sont nés vivants mais ont succombé dans les deux jours qui ont suivi leur naissance. La technique PCR a aussi révélé la présence du BVDV-2 sur 12 des produits nés de mères avortées et notamment sur le placenta, le cœur, le cerveau et le thymus.

De plus, dans l'étude de Garcia-Perez *et al.* (2009), sur les 84 fœtus analysés après l'avortement de mères infectées naturellement par contact avec un Ipi porteurs du BDV, 80 % étaient infectés. De plus, sur 25 agneaux issus de mères infectées expérimentalement, 88 % étaient infectés. On peut donc dire que les produits de mise-bas sont des sources d'infection non négligeables même si tous les avortons ne sont pas porteurs du virus.

Plus précisément, l'étude de Hurtado *et al.* (2009) a démontré que lors des analyses, les tissus contenant le plus d'ARN viral sur les fœtus étaient la peau et le cortex cérébral. Le fait que la peau soit fortement chargée en virus peut laisser supposer qu'une infection par contact avec ces avortons facilite la propagation de l'agent pathogène.

## **5.5. Description des performances des tests diagnostiques disponibles**

### **5.5.1. Tests diagnostiques pour la recherche du BVDV**

Pour la recherche du virus de la BVD, plusieurs techniques peuvent être utilisées. Il s'agit de l'IHC pour la recherche d'antigènes viraux, la séroneutralisation pour la recherche d'anticorps anti-BVDV-2, la Reverse Transcription PCR (RT-PCR), la RT-PCR Quantitative (qRT-PCR) et la recherche d'antigène viral par Elisa. Ainsi, dans l'étude de Broaddus *et al.* (2009), l'IHC s'est révélée positive pour 12 des 19 échantillons de placenta, cerveau, cœur et thymus fœtaux et la RT-PCR a permis la mise en évidence du virus BVDV-2 pour 12 des 29 échantillons de placenta, cœur, cerveau et thymus. Ces analyses semblent fiables pour la recherche du virus les quatre tissus utilisés lors de l'étude sont de bons supports (Broaddus *et al.*, 2009).

Par ailleurs, la technique Elisa antigénémie (Elisa-Ag) est rapide et très utile pour la recherche d'Ipi. En effet, lors de l'analyse de prises de sang ou de liquides fœtaux, des animaux séronégatifs Ipi donneront un résultat positif au test Elisa-Ag. Ce test permet la détection des antigènes NS2-3 (anciennement p125 et p80) du virus et ces antigènes sont beaucoup plus retrouvés par Elisa-Ag que RT-PCR sur les fœtus et les produits morts nés (Garcia-Perez *et al.*, 2009).

### **5.5.1. Tests diagnostiques pour la recherche du BDV**

Il semblerait que les résultats du test Elisa-Ag ne soient pas perturbés par l'autolyse éventuelle des échantillons ou par les lésions dues à la Border Disease qui apparaissent sur les supports d'analyse. Ainsi, la sensibilité supplémentaire de la technique Rt-PCR par rapport à l'Elisa-Ag est de 7,1 % sur le fœtus, 60 % pour les produits morts nés et 100 % pour les agneaux vivants. En revanche, lorsque l'on observe la sensibilité supplémentaire de l'Elisa-Ag vis à vis de la Rt-PCR, on obtient un ratio de 40 % pour le fœtus, 33,6 % pour les morts nés et 0 % pour les agneaux vivants (Garcia-Perez *et al.*, 2009).

Dans cette même étude, une RT-PCR a été effectuée sur les agneaux vivants et morts nés et 54,5 % (12/22) d'entre eux ont donné un résultat positif. Ainsi, le virus a été détecté sur 50 % des nœuds lymphatiques (10/20), 50 % des glandes thyroïdes (11/22) et 48 % des reins (12/25). En revanche, les tissus contenant beaucoup de lipides comme le système nerveux central, le thymus et la peau apparaissent souvent négatifs alors que l'analyse est positive pour d'autres tissus chez un même animal.

Toujours dans cette étude, la RT-PCR réalisée sur le sang permet de détecter une virémie sur 68 % des échantillons alors que l'Elisa-Ag ne le permet que dans 31,8 % des cas. De même, la RT-PCR est plus sensible que l'Elisa-Ag pour détecter les virus sur les animaux morts nés (54,5 % des cas contre 45,5 %) et les agneaux vivants (55,6 % des cas contre 27,8 %). En revanche, l'Elisa-Ag est plus efficace sur les fœtus (8,6 % des cas pour la RT-PCR contre 40 %).

La technique Elisa-Ag est donc plus appropriée pour l'analyse des fœtus et des animaux mort-nés tout comme celle des échantillons autolysés puisque l'autolyse provoque des dommages sur l'ARN viral et pose des problèmes pour la RT-PCR. En revanche, la RT-PCR est plus adaptée pour les analyses sur les agneaux vivants et en particulier sur les échantillons comme les nœuds lymphatiques, la glande thyroïde, le rein, le cerveau et en particulier le cervelet, le rate et les intestins (Garcia-Perez *et al.*, 2009).

Enfin, l'étude menée par Hurtado *et al.* (2009) a permis de démontrer que la RT-PCR en temps réel était plus sensible que la RT-PCR. Cette dernière technique en temps réel permet de différencier les infectés permanents ou IPI des infectés transitoires. En effet, ces virémies transitoires, qui n'ont pas pris le colostrum, ne présentent pas d'anticorps et ont un taux d'ARN viral dans le sang et les tissus plus faible que les infectés permanents. Ce faible taux rend d'ailleurs la technique qRT-PCR plus efficace que l'Elisa dans ce cas de figure. Cependant, l'autolyse fausse autant les résultats obtenus par qRT-PCR que par RT-PCR.

Par ailleurs, le lait semble aussi être un bon support d'analyse puisque la sérologie sur lait de tank est de plus en plus demandée sur le terrain. C'est par exemple le cas en Aveyron où 63 % des éleveurs l'ont réalisé durant l'année 2010/2011 et ceci a été poursuivi sur l'ensemble du département pour l'année 2012 (Fodsa, 2012). De plus, une étude menée dans le Pays Basque espagnol sur le lait de tank de troupeaux de brebis par Garcia-Perez *et al.* (2009) a permis de mettre en évidence des résultats équivalents en ce qui concerne les analyses PCR et Elisa. En revanche, cette étude a décrit des différences de séroprévalence selon l'âge des animaux. Sur 154 échantillons, 22 % étaient positifs en PCR. Parmi ces 154 échantillons, 34 (regroupant une trentaine de brebis chacun) ont été analysés par Elisa (sept PCR positives et 17 négatives lors des analyses précédentes) et on a obtenu 8,9 % d'animaux positifs à l'Elisa (soit 67,6 % des échantillons avec au moins un animal positif). Seuls 14,7 % de ces échantillons avaient une séroprévalence supérieure à 25 %. De plus, des échantillons individuels ont été prélevés afin d'estimer la prévalence intra-troupeau. On a alors vu que la séroprévalence des animaux de plus de deux ans était de 17,5 %, celle des animaux de un an de 7,5 % et celle de troupeau de renouvellement n'était que de 1,5 %.

**Le virus de la Border disease est un agent abortif dont la prévalence varie selon les régions. En effet, il semble beaucoup plus présent en Aveyron ou dans le Pays-Basque que dans les autres régions françaises.**

**Chez les ovins, des avortements, la mise bas de morts nés ou de produits non viables ou malformés surviennent lors d'une infection par le BDV au début ou dans la première moitié de la gestation. L'un des problèmes rencontrés dans la gestion de la maladie est la naissance d'individus infectés permanents (IPI) qui vont excréter le virus et entretenir la contamination de l'élevage.**

**La peau et le cortex cérébral semblent être les deux supports de choix pour la mise en évidence de l'ARN viral.**

**Les techniques Elisa-Ag et RT-PCR sont les techniques les plus adaptées à la recherche du BDV et sont dépendantes du type d'échantillons utilisés (avortons ou agneaux vivants).**

## **6. *Toxoplasma gondii*, agent de la toxoplasmose**

### **6.1. Étiologie**

*Toxoplasma gondii* est un parasite protozoaire appartenant à la famille des coccidies. Il s'agit d'une des espèces les plus étudiées de cette famille de par ses conséquences cliniques et le fait qu'il soit à l'origine de zoonose.

Ce parasite est capable d'infecter tous les animaux à sang chaud ainsi que l'homme. Les félins sont les hôtes définitifs qui hébergent des oocystes dans leur fèces et son à l'origine de la contamination de l'environnement. Cela fait des chats l'un des principaux réservoirs de la maladie. Chez les petits ruminants, ce parasite est responsable d'avortement mais il peut aussi donner lieu à des formes subcliniques car *Toxoplasma gondii* a la capacité de s'enkyster dans les muscles ou le système nerveux des animaux qu'il contamine (Dubey et Hill, 2008 ; Dubey, 2009 ; Halos *et al.*, 2010 ; Stormoen *et al.*, 2012 ; Glor *et al.*, 2013).

### **6.2. Épidémiologie**

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire cosmopolite qui semble être à l'origine de la plupart des avortements d'origine parasitaire chez les petits ruminants. On estime que sa séroprévalence varie de 4 à 95 % à travers le monde. De plus, cet agent pathogène est responsable d'infections humaines dues essentiellement à la consommation de viandes infectées mal cuites ou de denrées mal nettoyées ou mal préparées (Cenci-Goga *et al.*, 2013).

L'excrétion d'oocystes dans les matières fécales présente par ailleurs une voie de contamination majeure de l'environnement ce qui complique la prévention et le contrôle de la toxoplasmose (Dubey, 2009 ; Halos *et al.*, 2010 ; Stormoen *et al.*, 2012 ; Glor *et al.*, 2013).

Par ailleurs, une contamination en fin de gestation donne lieu à des avortements ou de la mortalité périnatale mais les femelles gravides infectées restent asymptomatiques. La toxoplasmose peut avoir une expression épidémique dans le troupeau et l'on observera alors des troubles à différents stades de la gestation chez les femelles gravides.

Dans une étude menée par Stormoen *et al.* (2012) sur 2 188 sérums de chèvres prélevées dans 73 troupeaux norvégiens, la séroprévalence de la toxoplasmose était positive pour 75 % des troupeaux (55/73). En revanche, dans les 55 troupeaux séropositifs, le nombre d'animaux séropositifs par troupeau variait de 3,3 % (1 animal sur 30) à 100 % (30 animaux) et 53 % des troupeaux ne comptaient qu'un à trois animaux séropositifs. Cela signifie que la plupart des troupeaux sont à risque et que la majorité des animaux présents dans ses troupeaux n'ont pas eu de primo-infection ce qui peut poser de nombreux problèmes si une infestation majeure venait à apparaître. En effet, tout contact de femelles naïves et gestantes avec des formes infectantes d'oocystes (issus de fèces de carnivores domestiques) à l'origine d'une contamination des aliments pourrait engendrer un pic d'avortement par transmission horizontale de l'agent de la toxoplasmose.

Enfin, un animal infecté est ensuite immunisé, cela signifie qu'une brebis ou une chèvre ayant avorté ne devrait pas avoir de problème lors des gestations suivantes. Compte tenu de cela, certains éleveurs mettent leurs agnelles ou chevrettes au contact de brebis ayant avorté afin de les immuniser. De plus, les fèces de chats jouant un rôle prépondérant dans la dissémination du parasite, il faut veiller à ce que les chats soient tenus à l'écart des animaux ou du moins que leurs excréments ne se retrouvent pas dans l'alimentation des animaux d'élevage (Reynal, 2004 ; Buxton *et al.*, 2007 ; Dubey et Hill, 2008).

### **6.3. Physiopathologie de l'infection par *Toxoplasma gondii***

Le parasite présente trois phases infectieuses : les tachyzoïtes qui constituent la forme capable de se multiplier rapidement, les bradyzoïtes qui forment le tissu kystique et les sporozoïtes contenus dans les oocystes (Reynal, 2004).

La transmission de *Toxoplasma gondii* a lieu lors de l'ingestion d'oocystes rejetés dans l'environnement avec les déjections de chats infestés (Cenci-Goga *et al.*, 2013). Les petits ruminants peuvent alors consommer de l'herbe de pâture, de l'eau ou une partie de la ration ainsi contaminées et se parasiter. D'après l'étude de Dubey (2009), il suffirait qu'un petit ruminant ingurgite 100 oocystes viables pour s'infecter et que cela ait des répercussions lors d'une gestation en cours.

Dans un article de Buxton *et al.* (2007), il a été décrit que suite à l'ingestion d'oocystes viables, on observe un relargage de sporozoïtes dans le petit intestin puis une multiplication de tachyzoïtes quatre jours post-infection dans les nœuds lymphatiques mésentériques. Ce mécanisme s'accompagne d'un épisode d'hyperthermie chez la brebis environ, 10 jours post-infection et c'est durant cette phase que le parasite est détectable dans le sang.

Les tachyzoïtes ont la particularité de se développer et d'être disséminés dans les circulations sanguine et lymphatique ce qui peut conduire à un passage parasitaire par voie transplacentaire lorsque l'animal est gestant. Ce passage transplacentaire s'explique par le fait que le système immunitaire de la mère est inhibé afin de maintenir la gestation. Ainsi, les mécanismes d'activation des cytokines inflammatoires telles que l'interleukine 2 (IL-2), le Facteur de Nécrose Tumorale (TNF  $\alpha$ ) et l'interféron gamma (IFN  $\gamma$ ) sont atténués et cela favorise l'infection du fœtus lors d'une contamination verticale. Les parasites progressent ainsi jusqu'aux caroncules maternelles des placentomes puis envahissent les cellules trophoblastiques des villosités fœtales avant d'atteindre l'ensemble du fœtus provoquant alors une nécrose à l'origine de l'avortement. Cette nécrose est provoquée par le développement des tachyzoïtes à l'intérieur des cellules jusqu'à les faire exploser et son apparence est caractéristique. Il s'agit de ponctuations blanches qui correspondent à une minéralisation dystrophique de foyers nécrotiques associée à la multiplication des tachyzoïtes comme l'ont décrit Gutierrez *et al.* (2010). Lors d'une gestation, lorsque le fœtus est infecté, on peut ainsi observer des lésions de nécrose sur divers organes.

D'après Dubey et Hill (2008) et Nietfeld *et al.* (2008), lorsque les brebis ou les chèvres sont infectées par *Toxoplasma gondii* en début de gestation, on observe une résorption de l'embryon ou une momification du fœtus.

Un animal immunodéprimé ou jeune peut succomber à une infestation majeure par les tachyzoïtes car la dissémination systémique de cette forme parasitaire peut provoquer une pneumonie interstitielle, une myocardite, une nécrose hépatique, une méningo-encéphalite, une chorioretinite, une adénite ou une myosite. En revanche, un individu immunocompétent peut développer une réaction immunitaire assez forte pour contrôler l'infection et pousser le parasite à se stabiliser dans sa forme kystique. C'est ce qui a été décrit par Buxton *et al.* (2007). Lors d'une infection, les nœuds lymphatiques vont produire des INF  $\gamma$  et de nombreuses cellules blastiques. En début d'infection, une majorité de cellules à Cluster de Différentiation 4 (CD4+) sont produites puis au bout de 11 jours post-infection, les cellules CD8+ sont prédominantes et les INF  $\gamma$  sont alors indétectables. L'infection est alors contrôlée et le parasite s'enkyste pour se protéger. Cette forme kystique peut d'ailleurs persister dans l'organisme de l'animal durant des années voir toute sa vie et elle est préférentiellement localisée dans le système nerveux et les muscles.

Dans une étude de Moreno *et al.* (2012) réalisée sur 74 fœtus avortés d'agneaux et 26 de chevreaux dans diverses régions d'Espagne, 17 % de ces fœtus présentaient une infection protozoaire mise en évidence par au moins une technique diagnostique (PCR et/ou histopathologie). Une autopsie a été réalisée sur chacun de ces fœtus et des prélèvements de cerveau, poumon, cœur, foie, rate et rein ont été effectués.

Au cours de ces analyses, il a été mis en évidence des lésions caractéristiques de toxoplasmose : des foyers de nécrose multifocaux entourés de cellules inflammatoires ou des foyers multiples d'infiltrats cellulaires non suppuratifs. Les lésions étaient qualifiées de légères lorsque l'on retrouvait moins de deux foyers nécrotiques sur un organe, modérées pour deux à cinq foyers et enfin sévères pour plus de cinq foyers nécrotiques.

Par ailleurs, des lésions compatibles moins sévères ont été définies ; il s'agit de foyers d'inflammation gliale ou d'une inflammation gliale diffuse sans zone nécrotique apparente. Des lésions dites compatibles correspondent à une atteinte légère.

Il est apparu que les lésions étaient similaires pour une infection à *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum* ce qui rend la PCR indispensable pour différencier ces deux parasites responsables d'avortements chez les petits ruminants.

À l'issue de cette étude, les auteurs ont conclu que les avortements étaient associés à des lésions pour 62,5 % des fœtus infectés par *Neospora caninum* et seulement 37,5 % pour ceux touchés par *Toxoplasma gondii*. Il semblerait donc que la présence de lésions histologiques ne puisse pas être recherchée seule pour la détermination d'une infection par l'agent de la toxoplasmose.

Chez l'homme, le risque d'infection réside dans la consommation de viande mal cuite qui ne permet pas l'élimination d'une éventuelle forme kystique, l'ingestion accidentelle d'oocystes provenant des fèces de chat ou la consommation de légumes du jardin mal lavés et contaminés eux aussi par les déjections de chat.

Chez un individu immunodéprimé, la toxoplasmose peut avoir la forme d'une méningo-encéphalite due à la multiplication de kystes dans le cerveau suite à un échec de la réponse immunitaire.

Chez la femme enceinte, une infection durant la grossesse peut provoquer des malformations du fœtus dues à une contamination par voie transplacentaire à la naissance.

Il est donc important d'observer des règles strictes d'hygiène lors de la préparation des plats, de bien cuire les viandes, de prendre des précautions lors de la manipulation du chat de compagnie et en particulier lors du nettoyage de sa litière (gants ...) (Reynal, 2004 ; Halos *et al.*, 2010).

Enfin, dans une étude de Buxton *et al.* (2007) il est suggéré qu'une sensibilité accrue à l'agent de la toxoplasmose due à la race serait envisageable. En effet, dans une étude citée par ces derniers, les brebis de race Charollaise seraient plus souvent séropositifs que les autres races mais cela pourrait aussi s'expliquer par l'environnement dans lequel évoluent ces animaux et la séroprévalence dans leur région d'élevage.

#### **6.4. Modalités d'excrétion et conséquences pour le diagnostic**

Le phénomène majeur à l'origine de la contamination des petits ruminants est l'excrétion d'oocystes dans les fèces de chat. Il semblerait que le chat soit capable d'excréter jusqu'à un million d'oocystes dans ses déjections trois jours après sa contamination. Cette excrétion peut durer 20 jours et les oocystes sporulent durant un à cinq jours dans le milieu extérieur selon les conditions environnementales et pourraient persister pendant des mois sous forme viable. En revanche, un chat infecté n'excrète qu'une fois dans sa vie puisqu'il s'immunise après une primo-infection (Reynal, 2004).

Par ailleurs, d'après Reynal (2004), il est aussi possible, mais dans de rares cas, que les petits ruminants se contaminent suite à l'ingestion de liquide ou produits fœtaux ou de lait cru contaminés. Ceci inclurait donc une excrétion même faible et très rare de *Toxoplasma gondii* par les

petits ruminants dans le lait et produits de mise bas. Cette excrétion dans le lait a d'ailleurs été évoquée dans une étude menée par Dubey (2009). Il faisait état d'une étude au cours de laquelle de l'ADN de *Toxoplasma gondii* avait été retrouvé sur quatre des dix laits analysés par PCR et une sérologie avait permis la détection d'anticorps sur 91 des 117 échantillons de lait prélevés.

De plus, toujours d'après Reynal (2004), *Toxoplasma gondii* pourrait être isolé dans les fluides corporels comme la salive, les larmes, l'urine, les sécrétions vaginales mais leur rôle dans une éventuelle transmission n'a pas été prouvé. De même, le parasite pourrait être transitoirement mis en évidence dans le sperme de bélier mais la encore, cette voie d'excrétion ne semble pas majeure pour la contamination des brebis (De Moraes *et al.*, 2010).

### 6.5. Description des performances des tests diagnostiques

Pour la détection de *Toxoplasma gondii*, différentes méthodes d'analyses peuvent être utilisées. On distingue les méthodes de diagnostic direct comme l'histologie, l'IHC et la PCR de méthodes indirectes telles que l'immunofluorescence indirecte (Ifat), l'Elisa, le Western Blot, le test d'agglutination modifié (MAT), le test d'agglutination au latex (LAT) et le test d'hémagglutination indirecte (IHA)

Une étude de Glor *et al.* (2013) a eu pour but de comparer les résultats obtenus avec un nouveau kit Elisa, le PrioCHECK Toxoplasma Ab SR, à ceux issus de l'Ifat, l'IHA et de la PCR (*cf.* Tableau 1).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des travaux effectués lors de l'étude de Glor *et al.* (2013)

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Sujets	- Neuf brebis de cinq à sept mois séronégatives pour <i>Toxoplasma gondii</i> : - Six inoculées PO avec 10 000 oocystes - Trois « témoins négatifs »	- 96 ovins d'âge et de race différents - Sept brebis séronégatives	- 150 brebis autrichiennes de six mois à 10 ans	- 150 brebis autrichiennes de six mois à 10 ans
Résultats aux tests symptômes	- Syndrome févreux pendant 6 jours de 3 à 11 jours post-inoculation (jpi) - Écoulements nasaux séreux, tous, tachypnée, ramollissement des fèces 4 à 6 jpi - Apathie 4 à 13 jpi	- Séropositivité à l'Elisa, l'Ifat et l'IHA 25 à 32 jours après le début de l'étude pour les 7 brebis initialement séronégatives	- Titre $\geq 1/40$ à l'Ifat	- Titre $\leq 1/40$ à l'Ifat
Echantillons prélevés pour la sérologie	- Prélèvements 12 semaines post-inoculation - Muscles des postérieurs, jus de muscle et sérum	- Jus de muscle - Sérum	- Sérum - Jus de viande	- Sérum - Jus de viande
Echantillons prélevés pour la PCR	- Echantillons de cerveau	- Echantillons de muscle et de cerveau	- Echantillons de muscle et de cerveau	- Echantillons de muscle et de cerveau

Pour les analyses Elisa, le sérum des animaux des groupes 1 à 4 ont été testés à la dilution 1/100 alors que les échantillons de jus de viande des groupes 1 et 2 étaient dilués au 1/10 et 1/20.

Lors des analyses Ifat, le sérum était dilué de 1/40 à 1/520 et le jus de viande de 1/40 à 1/80.

Les analyses IHA ont été effectuées sur sérum dilués au 1/80.

La PCR a été réalisée sur les échantillons de cerveau et de muscles et tous les échantillons ont été analysés en double.

À l'issue des analyses, il semblerait que le test Elisa avait une sensibilité de 93,33 % et une spécificité de 97,87 % par rapport à l'Ifat sur sérum. De même, la sensibilité de l'Elisa par rapport à l'IHA était de 96,43 % et la spécificité de 98,74 %. Enfin, lorsque l'on compare les résultats Elisa aux résultats de la PCR, la sensibilité était de 100 % et la spécificité de 91,76 %.

Il a ainsi été mis en évidence que lors d'une infection, les ovins développent un taux d'IgG très important et ce taux peut persister plusieurs mois voire plusieurs années. L'Elisa semble permettre la détection du parasite à des stades précoces de l'infection mais certains animaux de l'étude ayant été contaminés artificiellement, on peut se poser la question de la réelle sensibilité du test puisque les doses infectantes étaient peut être trop élevées.

À l'issue de l'étude, les auteurs ont démontré que les échantillons de jus de viande analysés par IFAT devaient être dilués au 1/40 car une dilution plus forte augmentait le nombre de faux négatifs.

Enfin, la PCR est la méthode la plus sensible mais le parasite étant parfois en très faible quantité dans l'organisme ou sous forme kystique ou très localisé dans certains tissus, un résultat négatif doit être pris avec précaution. On considère cependant que le parasite est plus souvent retrouvé dans les échantillons de cerveau (87 % des cas) et dans les muscles (55 % des cas). D'autres études ont démontré que le parasite était plus souvent dans les muscles squelettiques et d'autres privilégiaient l'analyse du cerveau, du cœur et des muscles squelettiques. Il semble donc important de multiplier les échantillons (Glor *et al.*, 2013).

Par ailleurs, il a ainsi été supposé, de part ces caractéristiques analytiques, qu'un résultat négatif à la PCR et positif à l'Elisa pouvait être dû à un parasite indétectable à la PCR (pas présent dans le tissu prélevé) alors que le résultat sérologique est valable (Glor *et al.*, 2013).

**La toxoplasmose est une parasitose qui a pour principal réservoir le chat. Chez les petits ruminants, ce parasite est responsable d'avortement lorsque la contamination survient en fin de gestation. Par ailleurs, il peut donner lieu à des formes subcliniques suite à la formation de kystes dans les tissus. Cependant, il est à noter qu'un animal infecté sera par la suite immunisé.**

**Les muscles squelettiques, le cerveau et le cœur sont les échantillons à privilégier lors de la recherche de *Toxoplasma gondii* et la multiplication de ces échantillons augmente les chances de retrouver le parasite.**

**Enfin, la PCR est la méthode la plus sensible mais l'Elisa donne de bons résultats lors de stades précoces de la maladie.**

## **DEUXIÈME PARTIE : Enquêtes 1 et 2 auprès des laboratoires vétérinaires départementaux, supports et compléments de l'enquête 3 présentée en troisième partie**

La première partie bibliographique avait pour but de rappeler les connaissances actuelles sur les agents abortifs majeurs rencontrés sur le terrain et les méthodes diagnostiques correspondantes. La deuxième partie consistera à donner le ressenti des laboratoires vétérinaires départementaux sur les méthodes employées et les problèmes rencontrés face à des avortements chez les petits ruminants.

A l'origine du projet, l'étude devait comporter deux questionnaires destinés d'une part aux vétérinaires praticiens afin d'avoir leur vision de la situation sur le terrain et d'autre part aux laboratoires départementaux pour avoir leur ressenti sur la gestion des prélèvements et la réalisation des analyses d'autre part. Cela avait pour but de déterminer quelle est la situation actuelle face aux épisodes abortifs rencontrés dans les élevages français. Or, au cours d'une conversation avec Mme R. De Cremoux de l'Institut de l'Élevage, nous avons appris que des enquêtes avaient précédemment été réalisées auprès des laboratoires départementaux vétérinaires concernant les avortements ovins et caprins. Ces deux enquêtes et leurs résultats vont ainsi être présentés ci après.

La première, menée par un groupe de travail national sur le diagnostic différentiel des avortements animé par l'Institut de l'élevage / UMT SPR, auprès des laboratoires vétérinaires départementaux (Enquête 1) traite de la chlamydie, la toxoplasmose, la salmonellose et la Border disease. La seconde, conduite par le laboratoire National de référence de la fièvre Q de Sophia Antipolis (LNR / Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail - Anses) et l'Association française des Directeurs et cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses (Adilva) est destinée elle aussi aux laboratoires vétérinaires départementaux (Enquête 2) mais ne traite que de la fièvre Q.

Ces deux enquêtes avaient pour but de décrire la situation actuelle au sujet des avortements chez les petits ruminants en regroupant les attentes et observations des laboratoires. Par ailleurs, elles se complètent et permettent de regrouper des informations sur les cinq agents abortifs principaux traités précédemment.

## **1. Matériel et méthodes**

### **1.1. Les interlocuteurs**

#### ***1.1.1. Choix de l'interlocuteur***

Concernant les pratiques de laboratoires, les enquêtes 1 et 2 ont été conduites et analysées :

- pour la fièvre Q : par l'ADILVA (plus particulièrement M. Nicollet responsable, au moment de la réalisation de l'enquête, du Laboratoire d'Analyse Sèvres Atlantique (Lasat)) et le Laboratoire National de Référence (LNR) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa) de Sophia Antipolis (Mme Rousset responsable de ce laboratoire de référence),
- pour les autres maladies de première intention : par le groupe national sur le diagnostic différentiel chez les petits ruminants, animé par l'Institut de l'Élevage (Mme R. de Cremoux) et l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, dans le cadre des actions de l'UMT Santé des Petits Ruminants.

### **1.2. Les questionnaires**

#### ***1.2.1. Choix du support***

Pour l'enquête 1, un formulaire en ligne a été le support de choix (*Annexe 1*). En revanche, pour les enquêtes 2 (*Annexe 2*) et 3 (*Annexe 3*), le questionnaire a été envoyé par mail. L'usage d'un questionnaire en ligne peut apparaître comme plus ergonomique et plus aisé à compléter avec la possibilité d'un enregistrement à chaque étape de son remplissage. Il représente un gain de temps non négligeable pour l'envoi de relances et l'analyse ultérieure des résultats.

#### ***1.2.2. Diffusion***

Pour l'enquête 1, le questionnaire en ligne a été envoyé par mail à 83 laboratoires départementaux ainsi qu'au laboratoire Scanelis, laboratoire toulousain réalisant de nombreuses analyses sur des prélèvements issus de petits ruminants. Les adresses des laboratoires étaient toutes issues du *Roy*® 2011.

Pour la deuxième enquête, le questionnaire a été envoyé par mail à l'ensemble des laboratoires vétérinaires départementaux français entre juillet et septembre 2010. Les adresses étaient issues de l'annuaire vétérinaire *Roy*®2010.

### **1.2.3. Collecte et analyse des données**

L'enregistrement et l'analyse des données ont été réalisés à l'aide du logiciel *Lime Survey* pour l'enquête 1 car il permet un travail sur des données en ligne et du logiciel *Microsoft Office Excel 2007* pour l'enquête 2.

## **2. Résultats des enquêtes 1 et 2**

Les résultats des enquêtes 1 et 2 ont été fournis par les organismes ayant élaboré et traité ces études.

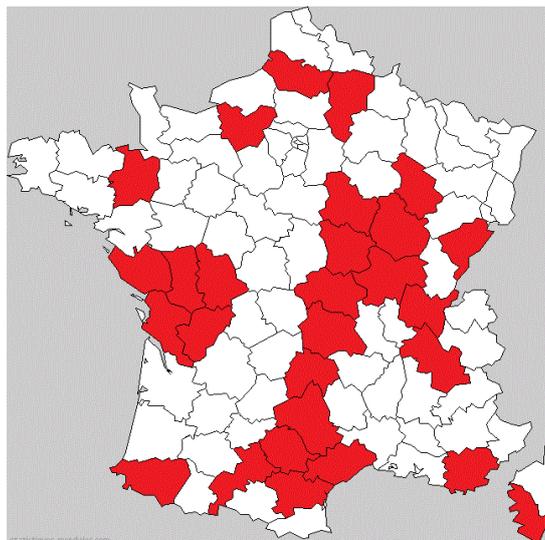
### **2.1. Enquête 1 : Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants-Enquête auprès des laboratoires (étude en cours menée par le groupe national sur le diagnostic différentiel chez les petits ruminants, animé par l'Institut de l'Élevage (Mme R. de Cremoux) et l'École Vétérinaire de Toulouse, dans le cadre des actions de l'UMT Santé des Petits Ruminants)**

#### **2.1.1. Participation à l'étude**

Comme décrit précédemment, l'enquête a été envoyée à 83 laboratoires vétérinaires départementaux ainsi qu'au laboratoire Scanelis de Toulouse. Les laboratoires contactés pour cette enquête étaient ceux pour lesquels une adresse mail était disponible dans l'annuaire *Roy®* 2011. Sur ces 84 sollicitations, il s'est avéré que huit adresses mail étaient incorrectes, trois mails n'ont jamais été ouverts, 29 laboratoires se sont connectés au site de l'enquête et 26 ont répondu. Sur les 26 réponses, seules neuf étaient complètes (toutes les rubriques complétées). Quatre relances ont été nécessaires pour l'obtention de ces résultats dont une réalisée avec l'appui de l'Adilva qui a contacté tous ses membres. Cette étude s'est étalée sur l'année 2011.

Les laboratoires ayant répondu sont situés dans l'Ain, l'Aisne, l'Allier, l'Aude, l'Aveyron, le Cantal, la Charente, la Corse du Sud, la Cote d'Or, les Deux-Sèvres (laboratoire couvrant aussi les départements de la Charente-Maritime et de la Vienne), le Doubs, l'Eure, la Haute Marne, l'Hérault, l'Ille et Vilaine, l'Isère, la Loire, la Nièvre, le Pas de Calais, le Puy de Dôme, les Pyrénées Atlantiques, la Saône et Loire, le Tarn, le Var et l'Yonne. A ces laboratoires départementaux s'ajoutait le laboratoire toulousain Scanelis (Cf. Figure 3). Le taux de participation à cette étude est de 31 % (26/84).

Figure 3 : Les départements ayant répondu au questionnaire en ligne (en rouge)



### 2.1.2. Gestion des prélèvements reçus par le laboratoire

Q1 : Selon quelles modalités recevez-vous les prélèvements réalisés dans le cadre d'un diagnostic d'avortements ? (Cf. Tableau 2)

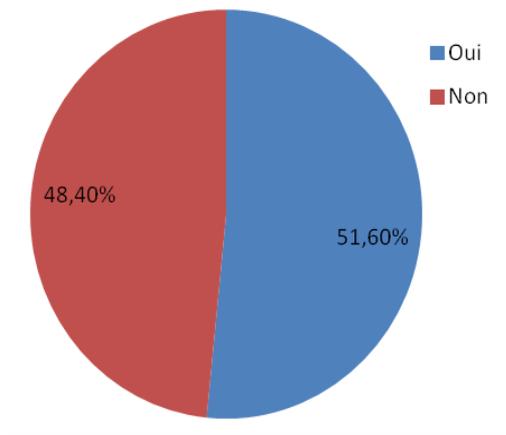
Tableau 2 : Modalités de réception des prélèvements par les laboratoires lors d'un diagnostic d'avortement

	Peu fréquent	Fréquent	Majoritaire	<24 heures	24-48 heures	>48 heures
Envoi postal	15	6	5	1	8	14
Navette	4	7	15	9	12	3
Direct	19	3	4	14	4	1
Autre	1	2	0	1	0	0

Trente et un laboratoires se sont exprimés sur cette question. Les prélèvements acheminés par envoi postal sont peu fréquents et leur délai de livraison au laboratoire est généralement long (>48 heures). Les modes d'acheminement les plus rapides sont la navette et le dépôt direct au laboratoire mais le dépôt direct est peu fréquent d'après les laboratoires. Les laboratoires qui ont renseigné la proposition « Autre » n'ont pas explicité quel était ce mode d'acheminement.

Q2 : Les modalités d’emballage répondent-elles en majorité à la réglementation en vigueur ? (Cf. Figure 4)

*Figure 4 : Proportion des laboratoires qui déclarent que les modalités d'emballage répondent à la réglementation en vigueur*

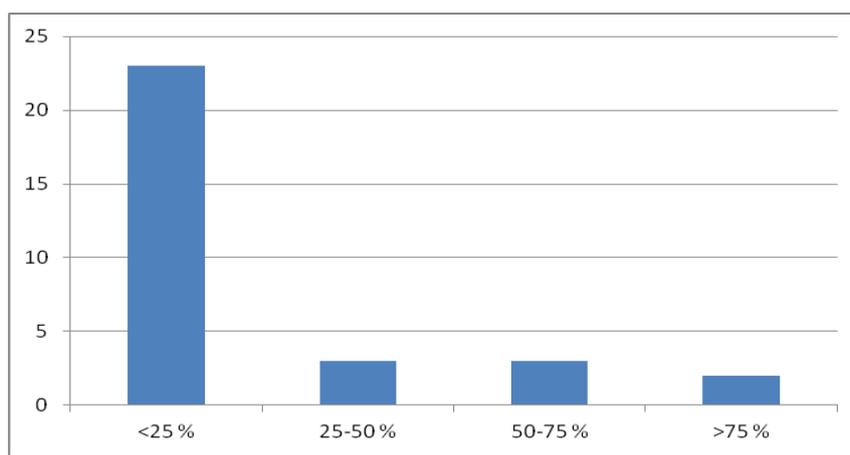


Pour 16 des 31 laboratoires (51,6 %) ayant répondu à cette question, les emballages reçus ne sont pas réglementaires. Il n’était pas précisé si les laboratoires qui ont répondu « Non » prenaient en compte les acheminements directs ou s’ils ne considéraient que les prélèvements emballés.

Par ailleurs, 12 laboratoires ont précisé que l’emballage des échantillons était fourni par leurs soins sur les 13 exprimés (92,3 %).

Q3 : Les échantillons vous parviennent-ils en majorité sous couvert de froid ? (Cf. Figure 5)

*Figure 5 : Proportion des échantillons qui arrivent sous couvert de froid au laboratoire*



Les échantillons arrivent sous couvert de froid dans moins de 25 % des cas selon 29 des 31 départements qui ont renseigné cette question (93,5 %).

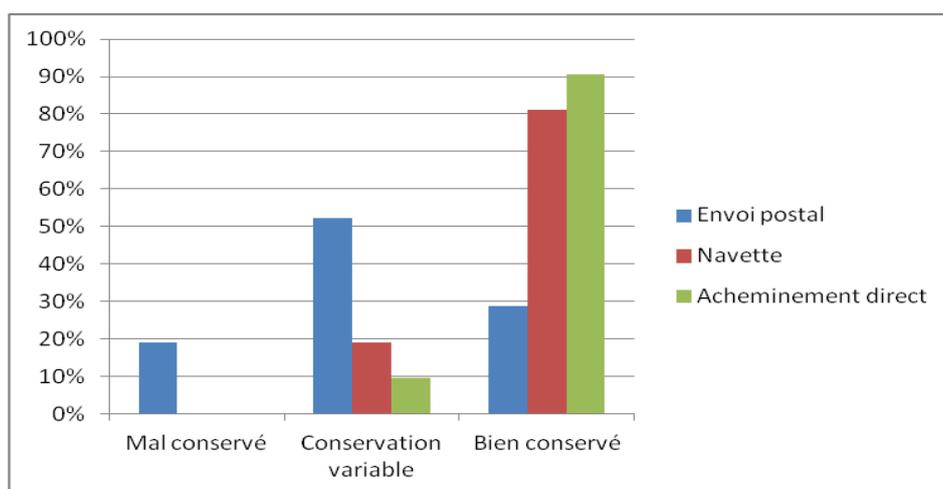
Q4 : Dans quel état de conservation se présente majoritairement les échantillons à leur réception ?

Pour 24 des 27 laboratoires ayant répondu, les échantillons sont plutôt bien conservés et exploitables.

Q5 : Selon les modalités d'acheminements, observez-vous des différences dans l'état des échantillons reçus ? (Cf. Figure 6)

Vingt et un laboratoires ont renseigné cette question.

Figure 6 : Bilan de l'état de conservation des échantillons à leur réception selon le mode d'acheminement



Il apparait ici que, d'une manière générale, les prélèvements reçus par les laboratoires sont bien conservés. Par ailleurs les échantillons mal conservés ou en état de conservation variable recensés sont principalement ceux qui ont été transmis par envoi postal.

Q6 : Selon leur nature, dans quel état de conservation se présentent majoritairement les échantillons à leur réception ? (Cf. Tableau 3)

Tableau 3 : Etat de conservation des échantillons selon leur nature

	Mal conservé	Bien conservé et non souillé	Bien conservé MAIS souillé
Avorton entier	4	6	15
Organes d'avorton	2	14	5
Placenta entier	2	5	12
Houppes cotylédonaire	1	9	10
Ecouvillon vaginal	0	18	1
Ecouvillon placentaire	0	11	4

Vingt-huit laboratoires se sont exprimés sur ce point. Il semble que les échantillons d'avorton entier, de placenta entier et de houppes placentaires soient généralement bien conservés mais souillés. En revanche, les organes d'avortons et les écouvillons placentaires ou vaginaux sont majoritairement bien conservés et non souillés.

Q7 : Quelles seraient, selon vous, les conditions qui permettraient d'obtenir des prélèvements de bonne qualité ?

Tout d'abord, d'après les réponses données par les laboratoires, le temps est un facteur prépondérant. En effet, en cas d'avortement, lorsque l'éleveur fait rapidement appel au vétérinaire et que les échantillons que ce dernier prélève sont acheminés dans les plus brefs délais au laboratoire, la qualité des supports d'analyse est alors meilleure. Le court délai d'acheminement doit d'ailleurs être privilégié pour les analyses sur avortons ou organes ainsi que pour les analyses bactériologiques.

Cinq laboratoires évoquent par ailleurs la nécessité de former les vétérinaires et de les sensibiliser aux règles des bonnes pratiques pour la réalisation de prélèvements non souillés, leur conservation et leur envoi dans un emballage adapté.

Certains laboratoires préconisent aussi la réalisation d'écouvillons vaginaux et leur conservation au froid positif ou au congélateur si une PCR est envisagée par la suite. Il est d'ailleurs aussi question de température pour les véhicules transportant les échantillons jusqu'aux laboratoires départementaux. Ainsi, la température devrait être dirigée dans ces véhicules de transport.

De plus, les consignes d'emballage doivent être respectées car ce dernier est garant d'une protection de l'échantillon et permet de conserver une qualité de la matrice en vue des analyses.

Enfin, le laboratoire toulousain Scanelis préconise l'acheminement des prélèvements par Chronopost médical et cela semblerait satisfaisant pour la réalisation des PCR ultérieurement. Il est à noter que ce laboratoire ne réalise que des PCR.

Q8 : De quelles conditions de stockage disposez-vous ? (Cf. Figures 7, 8, 9 et 10)

Figure 7 : Durées de stockage de matériel génétique selon les laboratoires

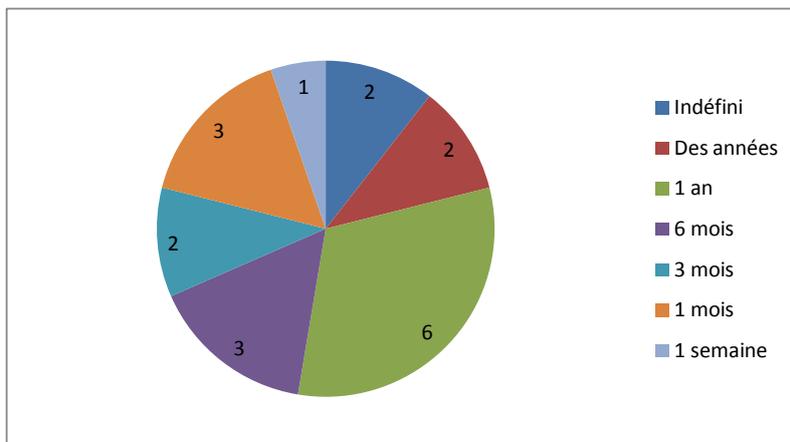


Figure 8 : Durées de stockage des sérums selon les laboratoires

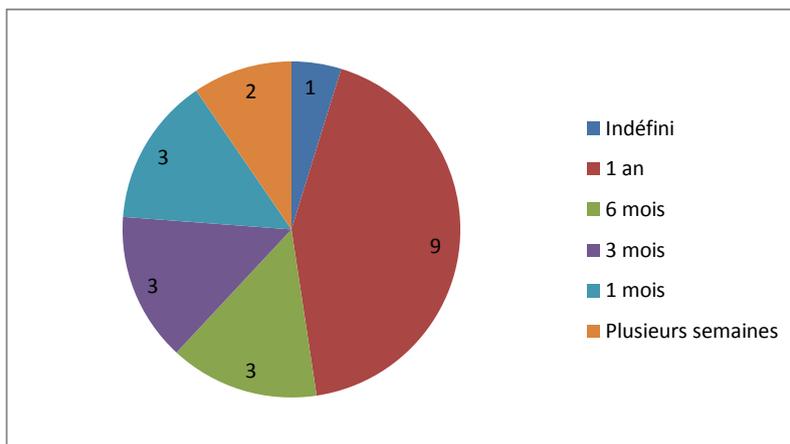


Figure 9 : Durées de stockage d'écouvillons selon les laboratoires

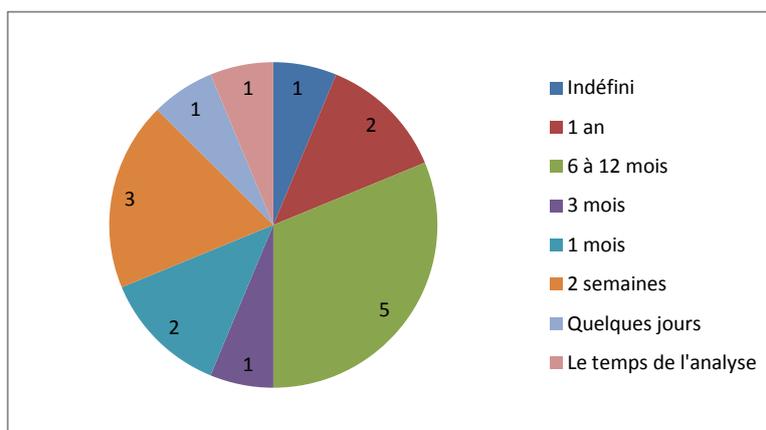
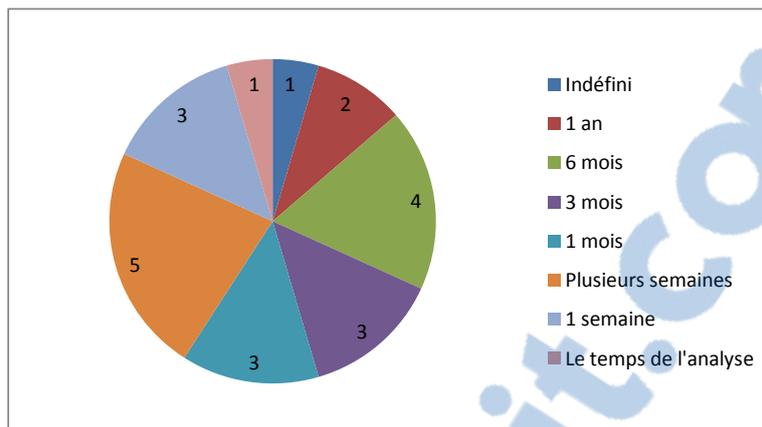


Figure 10 : Durées de stockage d'organes selon les laboratoires



Les durées de stockage sont très variables d'un laboratoire à l'autre. Certains ont un temps de stockage d'une semaine alors que pour d'autre il est « infini ». Concernant les sérums, 12 des 21 départements (57 %) ayant répondu considèrent que la durée de stockage est d'au moins six mois. Pour sept des 16 départements (43,8 %) ayant répondu sur le stockage des écouvillons et sept des 22 laboratoires (27,3 %) qui se sont exprimés au sujet d'un stockage d'organes, le stockage de plus de six mois est envisageable.

Si la durée de stockage est variable d'un département à l'autre, les capacités de stockage diffèrent elles aussi. Celles-ci peuvent aller du contenu d'un tiroir de congélateur dans certains départements à une pièce de 40 m<sup>2</sup> dans d'autres.

Sur l'ensemble des laboratoires ayant répondu à cette question, plus de 50 % possèdent un congélateur à -80°C capable de stocker les prélèvements.

Enfin, certains laboratoires évoquent les problèmes rencontrés lors du stockage de prélèvements tels que le manque de place, la gestion et l'entretien d'une sérothèque, la putréfaction possible si la conservation n'est pas optimale ainsi que les risques de contamination des opérateurs lors de la manipulation et du stockage d'organes par exemple.

Q9 : Avez-vous la possibilité de constituer des banques d'échantillons de sérum, en vue de travaux de recherche par exemple ?

Pour 24 des 27 laboratoires qui se sont prononcés sur la question, la constitution de ces banques d'échantillons est possible. Pour 20 laboratoires, si la banque d'échantillons ne peut pas être créée dans le laboratoire, les prélèvements peuvent être transférés vers un laboratoire de référence.

### 2.1.3. Traitement des échantillons

#### Q10 : Gestion des placentas (Cf. Tableau 4)

Vingt-sept laboratoires se sont exprimés sur ce point mais tous n'ont pas renseigné tous les items de cette question. Parmi les sondés, 85,2 % déclarent réaliser une préparation des placentas au laboratoire et les manipulations possibles sur un tel échantillon sont effectuées dans 48 à 74 % des cas.

Tableau 4 : Gestion et modes de préparation des placentas pour la réalisation d'analyses

	Oui	Non
Préparation au laboratoire	23	1
Elimination des zones souillées en surface	20	2
Choix des zones lésées	18	4
Ecouvillonnage	18	3
Broyage	13	7

#### Q 11 : Gestion des avortons (Cf. Tableau 5)

Tableau 5 : Gestion et modes de préparation des avortons pour la réalisation d'analyses

	Oui	Non
Choix des organes selon l'agent recherché	25	0
Utilisation de liquides fœtaux	17	5
Broyage de différents organes	19	5

Sur les 25 laboratoires qui se sont exprimés, tous réalisent une sélection des organes sur les avortons en fonction de l'agent abortif recherché.

Pour l'essentiel des laboratoires ayant répondu, le principal fluide fœtal utilisé est le liquide stomacal en vue d'une analyse PCR ou d'une bactériologie. Le prélèvement de liquide céphalo-rachidien n'a été cité qu'une fois.

#### Q12 : Gestion des écouvillons vaginaux : mise en suspension

Parmi les 15 laboratoires qui se sont exprimés sur la question, dix expliquent mettre l'écouvillon en solution dans 1 mL de Tampon Phosphate Salin (PBS) avant extraction d'ADN par PCR. Pour un laboratoire l'écouvillon est placé dans un bouillon Schaedler avant un ensemencement sur gélose pour une recherche bactériologique. Un laboratoire déclare n'effectuer aucune préparation et un second explique réaliser les écouvillons lui-même à partir des cotylédons reçus. Pour ce dernier laboratoire, la réponse ne correspond pas à la question puisqu'il s'agissait d'écouvillons vaginaux et non placentaires.

Q13 : Réalisez-vous des analyses en mélange ? (Cf. Tableau 6)

La réponse à cette question était « Non » pour 18 des 27 départements. Pour les quatre départements ayant répondu favorablement à cette question, deux ont dit réaliser des mélanges de deux matériels biologiques et les deux autres mélangent cinq échantillons voire plus.

*Tableau 6 : Conditions d'utilisation d'analyses de mélange*

	Réponses positives	Utilisation
Plusieurs organes d'un même individu	4	PCR
Plusieurs organes de différents individus	6	Sur jumeaux : mêmes organes en vue d'une bactériologie, PCR
Plusieurs écouvillons individuels	7	Mélange de 3 maximum pour la PCR (Fièvre Q et Chlamydie notamment)
Plusieurs extraits d'acides nucléiques	1	A la demande
Mélange de sangs	4	PCR, pour Border ou BVD, sérologie IBR, Brucellose et Leucose

Q14 : Extraction des acides nucléiques en vue d'une PCR

Dix huit laboratoires déclarent effectuer une extraction des acides nucléiques manuelle systématique alors que pour cinq autres laboratoires, cette extraction dépend de l'agent abortif recherché.

Six laboratoires effectuent cette extraction par un procédé robotisé systématique et six autres ne la réalisent qu'en fonction de l'agent abortif recherché.

**2.1.4. Chlamydie : description des techniques employées**

Q15 : Quelles techniques de diagnostic indirect employez-vous ?

Vingt-quatre laboratoires se sont exprimés et 100 % d'entre eux utilisent la technique Elisa. Ils sont quatre à utiliser la technique de fixation du complément et un seul laboratoire dispose de la technique d'immunofluorescence.

Q16 : Précisez les kits employés (Cf. Tableau 7)

*Tableau 7 : Différents kits employés pour les techniques de diagnostic indirect dans les laboratoires départementaux*

	Réponses positives
<b>IDEXX</b>	10
<b>ID VET</b>	3
<b>LSI</b>	6

Le kit le plus employé dans les laboratoires est le kit IDEXX.

Q17 : Quelles techniques de diagnostic direct employez-vous ? (Cf. Tableau 8)

*Tableau 8 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la chlamydiae*

	Réponses positives
<b>Coloration de Stamp</b>	18
<b>PCR conventionnelle</b>	0
<b>PCR en temps réel</b>	18
<b>PCR monovalente</b>	4
<b>PCR multiplex</b>	12
<b>PCR commerciale</b>	14
<b>PCR maison</b>	3
<b>Gamme étalon pour la quantification</b>	1
<b>ELISA (recherche d'antigène)</b>	4
<b>Antigénémie par FC</b>	2
<b>Antigénémie par immunofluorescence</b>	0

La technique de diagnostic direct majoritairement employée dans les laboratoires est la PCR et plus précisément les PCR en temps réel, multiplex et commerciale. La coloration de Stamp reste très utilisée puisque 18 laboratoires l'ont mentionnée. Il est à noter que les techniques de PCR conventionnelle, et immunofluorescence ne sont pas pratiquées dans les laboratoires sondés.

Q18 : Précisez les kits employés (Cf. Tableau 9)

Seuls sept laboratoires ont répondu à cette question et cinq kits ont été cités.

*Tableau 9 : Nom des kits d'analyse employés par les différents laboratoires interrogés*

<b>Kit employé</b>	<b>Nombre de laboratoires exprimés</b>
<b>Adiagène</b>	2
<b>QIA amp DNA mini</b>	1
<b>Qiagen</b>	1
<b>Adiavet Chlamox cy 5</b>	1
<b>LSI</b>	2

Q19 : Disposez-vous d'une méthode d'identification de l'espèce ?

Un des laboratoires a évoqué la méthode de Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction (RFLP) et quatre autres laboratoires ont déclaré utiliser une autre méthode sans préciser laquelle.

Q20 : Restitution des résultats (Cf. Tableau 10)

*Tableau 10 : Format d'expression des résultats pour la chlamydie*

	<b>Qualitatif</b>	<b>Semi-quantitatif</b>	<b>Quantitatif</b>	<b>Incertitude</b>
<b>Diagnostic indirect</b>	15	11	1	11
<b>Diagnostic direct</b>	24	3	1	1

La majorité des résultats obtenus par une technique de diagnostic direct sont qualitatifs alors que pour les méthodes de diagnostic indirect, les résultats sont qualitatifs ou semi-quantitatifs. Seul un laboratoire fournit des résultats quantitatifs. Par ailleurs, les incertitudes de mesures sont très rarement fournies avec les résultats dans le cadre d'un diagnostic direct.

Q21 : Interprétation des résultats à l'échelle individuelle

Une interprétation individuelle des résultats est possible avec la technique Elisa pour cinq des six départements exprimés ainsi qu'avec la PCR pour quatre des cinq (80 %) laboratoires ayant répondu.

Q22 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés

Pour l'interprétation des résultats obtenus par la méthode Elisa, les seuils utilisés sont ceux fournis par le fabricant.

Q23 : Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)

Seuls deux laboratoires déclarent effectuer une interprétation de troupeau avec les résultats de la technique Elisa. Ils sont trois laboratoires à l'affirmer pour la technique PCR.

Q24 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées

Aucune grille d'interprétation ne semble utilisée aux vues des réponses.

#### **2.1.5. Toxoplasmose : description et techniques employées**

Le diagnostic de toxoplasmose n'est pas réalisé dans le département de l'Ain. De plus, un autre laboratoire interrogé fait appel à un sous-traitant pour ces analyses.

Q25 : Quelles techniques de diagnostic indirect employez-vous ? (Cf. Tableau 11)

*Tableau 11 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la toxoplasmose*

	Réponses positives
ELISA sur le sang de la mère	16
ELISA sur liquides fœtaux	0
Autre	3

Le sang de la mère avortée semble être majoritairement utilisé comme support de l'analyse ELISA. Les autres techniques de diagnostic n'ont pas été explicitées.

Q26 : Précisez les kits employés

Les kits majoritairement employés sont les kits IDEXX (cité à quatre reprises) et LSI (cité à six reprises). Le kit ID Vet a été cité par un laboratoire.

Q27 : Quelles techniques de diagnostic direct employez-vous ? (Cf. Tableau 12)

Q28 : Précisez les kits employés

*Tableau 12 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la toxoplasmose*

	Réponses positives
PCR conventionnelle	0
PCR en temps réel	10
PCR multiplex	0
PCR commerciale	6
PCR maison	2
Gamme etalon	0
Immunohistochimie	0

La technique de diagnostic direct la plus employée est la technique PCR et plus précisément la PCR en temps réel même si les PCR commerciale et maison ont respectivement été citées par six et deux laboratoires. Seuls les laboratoires qui utilisent la PCR en temps réel ont renseigné la question sur les kits employés, sept ont cité le kit LSI et un seul a évoqué le kit Adiaгене.

Q29 : Disposez-vous d'une méthode d'identification de l'espèce ?

Cette question n'a pas été traitée par les laboratoires.

Q30 : Restitution des résultats (Cf. Tableau 13)

*Tableau 13 : Format d'expression des résultats pour la toxoplasmose*

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Incertitude
Diagnostic indirect	8	3	1	2
Diagnostic direct	6	2	1	1

Tout comme pour la chlamydie, les résultats rendus sont majoritairement qualitatifs et les incertitudes de mesure ne sont que rarement fournies avec les résultats.

Q31 : Interprétation des résultats à l'échelle individuelle

L'interprétation individuelle pour la méthode Elisa ou la PCR est réalisée dans 2 des 3 départements exprimés.

Q32 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés

Les modalités d'interprétation sont là aussi issues des critères du fabricant du test.

Q33 : Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)

L'interprétation de résultats de groupe obtenus avec l'Elisa est effectuée par trois laboratoires. Avec la méthode PCR, seul un laboratoire réalise cette interprétation de troupeau. Un cinquième laboratoire a mentionné l'utilisation de cette forme de résultats mais n'a pas défini quelle méthode était utilisée.

Q34 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées

Les modalités d'interprétation sont à nouveau celles fournies par le fabricant.

#### **2.1.6. Border Disease : description et techniques employées**

Q35 : Quelles techniques de diagnostic indirect employez-vous ? (Cf. Tableau 14)

*Tableau 14 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la Border disease*

	Réponses positives
ELISA anticorps anti-p80 sur sérum	18
ELISA anticorps anti-p80 sur plasma	7
ELISA anticorps anti-p80 sur lait de mélange	2
Séroneutralisation	0

La technique de diagnostic indirect la plus employée est l'Elisa anticorps anti-p80 sur sérum et viennent ensuite l'analyse sur plasma puis sur lait de mélange. La séroneutralisation ne semble pas être utilisée.

Q36 : Précisez les kits employés

Huit laboratoires utilisent le kit IDEXX alors que quatre évoquent le kit LSI, trois le kit de l'institut Pourquier et enfin deux travaillent avec le kit Synbiotics.

Q37 : Quelles techniques de diagnostic direct employez-vous ? (Cf. Tableaux 15, 16 et 17)

*Tableau 15 : Techniques antigénémiques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la Border disease*

	Sérum	Plasma	Sang total	Organes foetaux	Placenta
Antigène P80	2	1	3	3	1
Antigène E0	6	5	2	1	1

Huit laboratoires emploient des techniques d'antigénémie pour le diagnostic direct de la Border disease. La recherche de l'antigène E0 semble la technique la plus répandue et les sérums et plasma sont les échantillons les plus utilisés.

*Tableau 16 : Techniques PCR de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la Border disease*

	Réponses positives
PCR conventionnelle	0
PCR en temps réel	17
PCR commerciale	14
PCR maison	1

*Tableau 17 : Echantillons utilisés pour la réalisation d'analyses PCR lors d'un diagnostic direct*

	Réponses positives
Sérum	10
Sang total	14
Rate	16
Organes foetaux	7
Mucus vaginal	5
Placenta	6
Biopsie cutanée	2

La PCR est utilisée par 17 laboratoires et l'on remarque que 100 % d'entre eux emploient la technique de PCR en temps réel. Près de 82 % des sondés disposent d'une méthode PCR du commerce et seulement un laboratoire évoque une technique PCR maison.

Par ailleurs, l'isolement viral sur cellule n'est réalisé que dans l'un des laboratoires qui ont participé à l'enquête.

### Q38 : Précisez les kits employés

Pour les techniques antigénémiques le kit Idexx a été cité à sept reprises et le kit Synbiotics est utilisé dans deux laboratoires.

En ce qui concerne la technique PCR, trois kits ont été décrits : le kit LSI à huit reprises, le kit Adiaène à deux reprises et le kit AES à une reprise.

### Q39 : Disposez-vous d'une méthode d'identification de l'espèce ?

Cette question n'a pas été renseignée par les laboratoires.

### Q40 : Restitution des résultats (Cf. Tableau 18)

*Tableau 18 : Format d'expression des résultats pour la Border disease*

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Incertitude
Sérologie	14	5	1	6
Antigénémie P80	3	1	0	0
Antigénémie E0	7	2	0	3
PCR	12	5	1	3

Dans la majorité des cas, les résultats rendus sont exprimés sous forme qualitative. Il est à noter que les incertitudes de mesures n'apparaissent pas ou peu dans les résultats des analyses antigénémiques et de PCR.

### Q41 : Interprétation des résultats à l'échelle individuelle

L'interprétation des résultats sérologiques est individuelle pour neuf laboratoires. Elle est pratiquée chez 6 laboratoires pour les analyses antigénémiques P80 et chez 2 laboratoires pour les analyses sur les antigènes E0. Enfin, les résultats PCR sont rendus individuellement dans cinq laboratoires.

Lorsque la sérologie Elisa SYNBIOTICS qui est une technique de compétition, lors de densité optique élevée, l'éleveur et le vétérinaire reçoivent une fiche d'interprétation précisant que cette sérologie traduit le passage d'un virus sauvage et n'est pas la conséquence d'une vaccination. Dans le cadre de la sérologie, plus de 60 % de positifs dans la population sentinelle de six à 24 mois traduit un passage récent du virus sauvage

Q42 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés

Les seuils employés sont ceux fournis par le fabricant pour l'ensemble des laboratoires qui ont répondu à cette question.

Q43 : Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)

L'interprétation des résultats à l'échelle du troupeau est très peu pratiquée dans les laboratoires. Seuls deux laboratoires l'utilisent pour les résultats de sérologie et d'antigénémie P80, trois autres laboratoires l'ont mise en place pour les résultats PCR et un seul laboratoire y fait référence pour les analyses antigénémiques E0.

Q44 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées

Les modalités sont les mêmes que pour les résultats individuels, elles s'appuient sur les seuils fournis par le fabricant.

#### **2.1.7. Salmonellose : description et techniques employées**

Q45 : Quelles techniques de diagnostic indirect employez-vous ? (Cf. Tableau 19)

*Tableau 19 : Techniques de diagnostic indirect employées pour la mise en évidence de la salmonellose*

	Réponses positives
Séroagglutination	8
Elisa	0
Autre	6

La technique Elisa ne semble pas être utilisée pour la mise en évidence d'une exposition aux salmonelles. Les six laboratoires qui ont répondu « Autre » à cette question n'ont pas détaillé quelle méthode était utilisée. Enfin, la séroagglutination semble être la méthode de diagnostic indirect la plus utilisée.

Q46 : Précisez les kits employés

Cette question n'a pas été renseignée par les laboratoires.

Q47 : Quelles techniques de diagnostic direct employez-vous ? (Cf. Tableaux 20 et 21)

Tableau 20 : Techniques de diagnostic direct employées pour la mise en évidence de la salmonellose

	Réponses positives
PCR conventionnelle	0
PCR en temps réel	1
PCR monovalente	0
PCR multiplex	0
PCR du commerce	1
PCR maison	0
Bactériologie	20

Deux laboratoires ont déclaré utiliser une technique PCR en temps réel et du commerce mais pour la grande majorité des laboratoires, l'analyse utilisée pour le diagnostic direct de salmonellose est la bactériologie.

Tableau 21 : Echantillons utilisés lors du diagnostic direct de salmonellose

	PCR	Bactériologie
Liquides fœtaux	1	22
Mucus vaginal	2	17

Les liquides fœtaux et le mucus vaginal sont les principaux échantillons utilisés lors d'analyses de diagnostic direct.

Q48 : Précisez les kits employés

Seuls quatre laboratoires ont répondu à cette question. Un laboratoire a cité le kit LSI, un autre les normes Afnor et enfin deux autres sondés utilisent la norme U47-102.

Q49 : Disposez-vous d'une méthode d'identification de l'espèce ?

L'espèce de salmonelle mise en cause lors des analyses peut être identifiée par méthode biochimique (galerie API) selon deux laboratoires, sérotypage pour dix laboratoires ou par agglutination pour deux laboratoires. Quatre des laboratoires interrogés déclarent avoir recours au LNR lors de la mise en évidence d'un sérotype non identifié. Enfin, l'un des laboratoires sondés a évoqué le milieu Kauffmann-White pour l'identification d'espèce cependant, cela paraît étonnant car ce milieu seul ne permet pas d'identifier une espèce en particulier.

#### Q50 : Restitution des résultats (Cf. Tableau 22)

Tableau 22 : Format d'expression des résultats pour la salmonellose

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Incertitude
Diagnostic indirect	0	2	2	1
Diagnostic direct	18	0	1	0

Les résultats rendus sont généralement qualitatifs. Les incertitudes de mesure ne sont qu'exceptionnellement présentes dans les rendus de résultats.

#### Q51 : Interprétation des résultats à l'échelle individuelle

Une interprétation individuelle des résultats sérologiques est réalisée dans quatre laboratoires. Deux laboratoires la réalisent également suite à une analyse PCR. Enfin, pour douze laboratoires, les résultats bactériologiques sont rendus avec une interprétation individuelle.

#### Q52 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés

Aucun seuil ne semble utilisé. Deux laboratoires ont répondu à la question et ont évoqué que seules l'absence ou la présence de bactérie apparaissaient dans les documents de résultats.

#### Q53 : Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)

Deux départements déclarent réaliser des interprétations de groupe pour les analyses sérologique et bactériologique. Aucun résultat de troupeau n'est délivré suite à une étude PCR.

#### Q54 : Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées

Les réponses sont les mêmes que pour la question 52.

### 2.1.8. *Conseils en termes de prélèvements et d'analyses*

Q55 : Fournissez-vous aux prescripteurs un guide de prélèvement indiquant par exemple le type de matrice à prélever, la quantité nécessaire, le mode de conservation ?

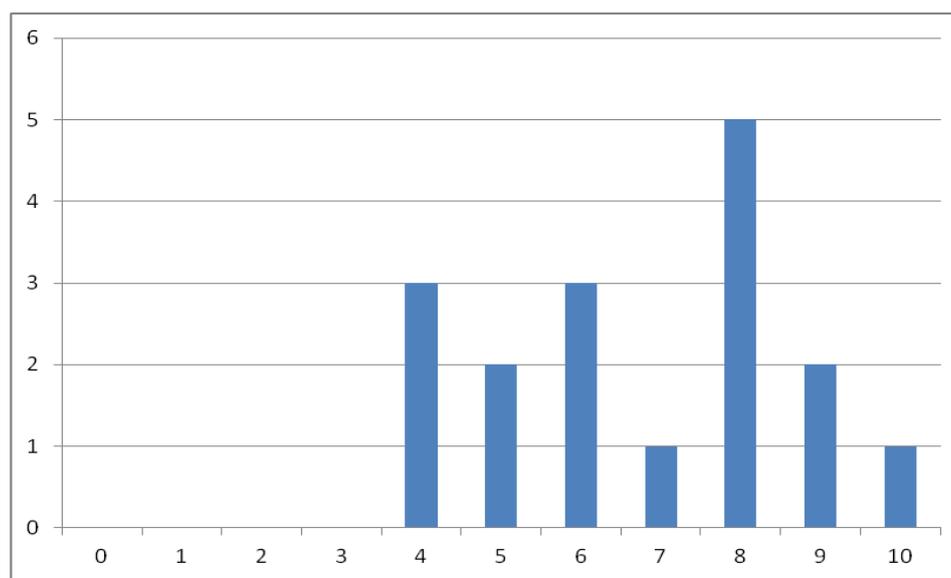
Dix-sept laboratoires ont déclaré fournir un guide de prélèvement aux vétérinaires.

Q56 : Si oui ces conseils sont-ils mentionnés ?

Ces conseils sont mentionnés sur la fiche de demande d'analyse pour cinq laboratoires, sur un document à part pour neuf laboratoires et sur les deux documents simultanément pour quatre laboratoires.

Q57 : Ces recommandations sont-elles suivies ? (Cf. Figure 11)

*Figure 11 : Evaluation de la qualité de suivi des recommandations selon une échelle de 0 (nul ou très mauvais) à 10 (excellent)*



Aucun laboratoire n'a donné une note inférieure à 4. Les recommandations semblent être généralement bien respectées.

- Taux de participation de 31 %
- Principal mode d'acheminement des prélèvements : la navette
- Emballages non réglementaires pour plus de 50 % des laboratoires avec une présence de dispositif de refroidissement dans moins de 25 % des cas
- Echantillons généralement bien conservés mais souillés

	Méthodes diagnostiques		Nature du prélèvement	Expression des résultats
	Directe	Indirecte		
<b>Chlamydie</b>	PCR temps réel	Elisa (FC et Ifi ont été citées)	Non objectif	Qualitatif ou semi quantitatif
<b>Toxoplasmose</b>	PCR temps réel	Elisa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sang de la mère pour l'Elisa</li> <li>- Non objectif pour la PCR</li> </ul>	Qualitatif ou semi quantitatif
<b>Border disease</b>	PCR temps réel	Elisa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sérum pour l'Elisa</li> <li>- Rate, sérum et sang total pour la PCR</li> </ul>	Qualitatif
<b>Salmonellose</b>	Bactériologie	Séro-agglutination	Liquides fœtaux et mucus vaginal	Qualitatif

## 2.2. Enquête 2 (Rousset et Nicollet, 2010)<sup>2</sup>

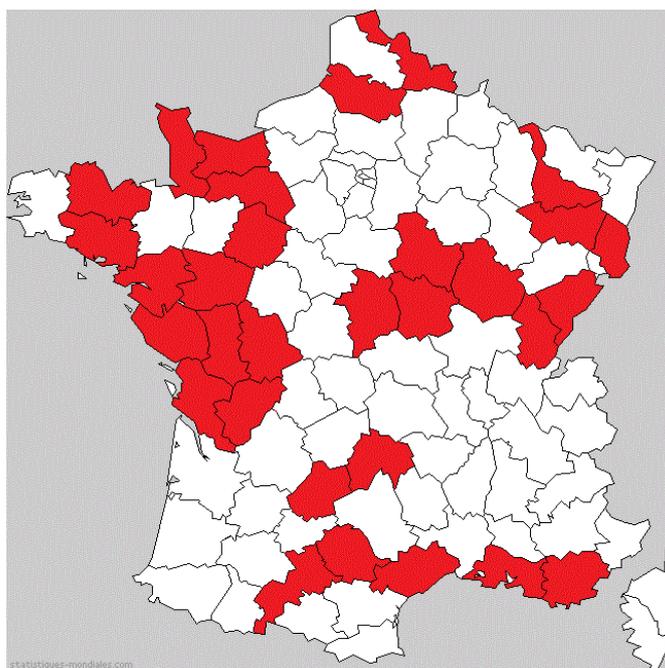
### 2.2.1. Participation à l'étude

Cette deuxième enquête concerne 60 laboratoires vétérinaires départementaux publics adhérents de l'Adilva et deux laboratoires privés. Le questionnaire a été transmis par mail et les réponses ont été enregistrées de Juillet à Septembre 2010. Les laboratoires non adhérents à l'Adilva devaient renvoyer leur questionnaire au représentant du Lasat alors que les non adhérents communiquaient avec un membre du personnel de l'Anses. Deux relances ont été effectuées.

Les sondeurs ont reçu 33 réponses ce qui correspond à un taux de participation de 40 % (Cf. Figure 12).

Les résultats ont été traités avec le logiciel Excel.

Figure 12 : Les départements ayant répondu au questionnaire (en rouge)

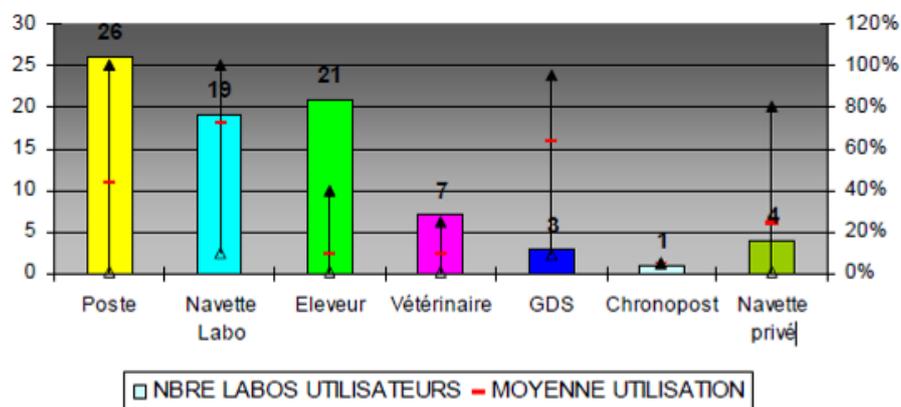


<sup>2</sup> Enquête sur les modalités d'analyse de la fièvre Q pour le diagnostic des avortements chez les ruminants (menée par l'ADILVA (plus particulièrement M. Nicollet responsable, au moment de la réalisation de l'enquête, du Laboratoire d'Analyse Sèvres Atlantique (Lasat)) et le Laboratoire National de Référence (LNR) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa) de Sophia Antipolis (Mme Rousset responsable de ce laboratoire de référence)

## 2.2.2. Acheminement des prélèvements autres que sang ou sérum

Q1 : Mode d'acheminement des prélèvements au laboratoire ? (Cf. Figure 13)

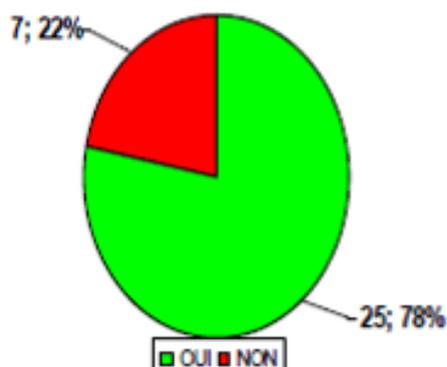
Figure 13 : Modalités d'acheminement des prélèvements (autre que le sang) au laboratoire (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



Dans la majorité des cas, les prélèvements sont acheminés vers le laboratoire par la poste. Cependant, il est à noter que l'utilisation de navette et le transport direct par les éleveurs sont aussi très fréquents.

Q2 : Le laboratoire fournit-il des emballages réglementaires ? (Cf. Figure 14)

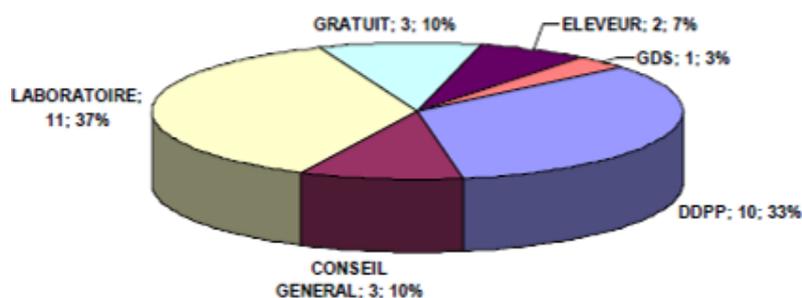
Figure 14 : Répartition des laboratoires fournissant ou non des emballages réglementaires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



Concernant la fourniture d'emballages réglementaires, 78 % des laboratoires déclarent l'effectuer.

Q3 : Comment s'effectue le financement de l'emballage et du transport des prélèvements ? (Cf. Figure 15)

*Figure 15 : Financement de l'emballage et du transport des prélèvements selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



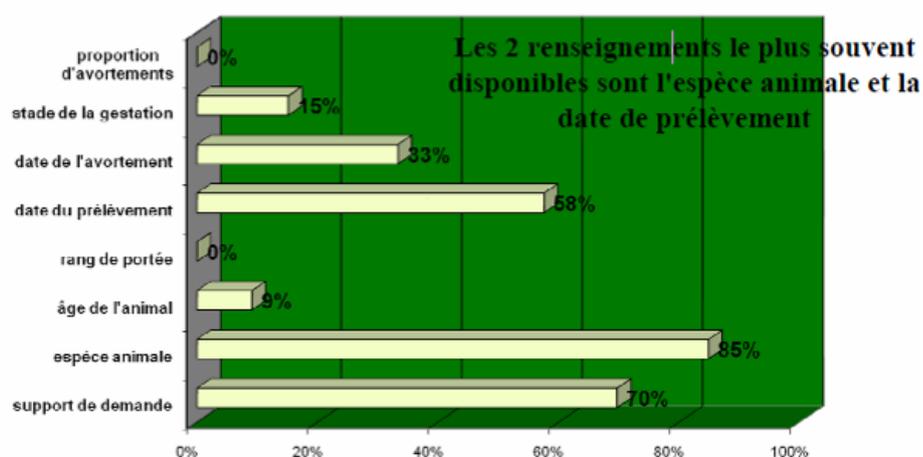
Dans 70 % des cas, le laboratoire lui-même ou la DDCSPP financent l'emballage et le transport des prélèvements. Dans trois départements, dont les laboratoires ont répondu à l'enquête, l'emballage et l'acheminement sont gratuits. Le conseil général, les éleveurs et le GDS participent financièrement dans six départements.

### 2.2.3. Descriptions des demandes d'analyse pour la fièvre Q abortive

Q4 : Existe-t-il un support de demandes d'analyses dédié aux recherches des causes infectieuses d'avortement dans votre département ? (Cf. Figure 16)

Q5 : Qu'est ce qui figure dans le commémoratif de la demande d'analyse ? (Cf. Figure 16)

*Figure 16 : Présence d'un support de demande d'analyse dédié aux causes infectieuses abortives et informations recueillies dans les commémoratifs (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*

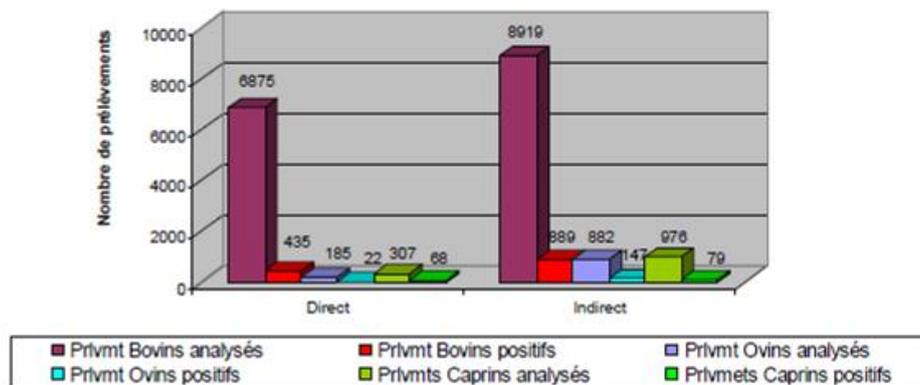


Lors de la mise en place d'un protocole de diagnostic différentiel d'agents abortifs, 70 % des laboratoires fournissent un support de demande d'analyse. Selon les laboratoires, ces demandes

d'analyse contiennent des informations concernant le stade de gestation, la date de l'avortement, l'âge de l'animal et l'espèce concernée. Aucun document ne contient les items « proportion d'avortement » et « rang de portée ». Comme décrit sur le graphique, l'espèce animale et la date du prélèvement sont les informations les plus fournies par les vétérinaires demandeurs d'analyse.

Q6 : Nombre d'analyses réalisées pour la fièvre Q abortive et celles trouvées positives sur l'année 2009 (Cf. Figure 17 et Tableau 23)

Figure 17 : Nombre d'analyses fièvre Q effectuées en 2009 par espèce (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



En 2009, 9 228 analyses directes ont été effectuées dans 25 laboratoires et 14 445 analyses indirectes ont été dénombrées dans 28 laboratoires ayant répondu à l'enquête.

Tableau 23 : Analyses ayant donné un résultat positif lors de la recherche fièvre Q pour la mise en évidence d'un agent infectieux abortif

	Analyse directe	Analyse indirecte	Espèce
Réponse positive	6 %	10 %	Bovins
	12 %	17 %	Ovins
	22 %	17 %	Caprins

La part des analyses positives est de 12,4 % chez les caprins et de 16,7 % chez les ovins. La fréquence de survenue d'un résultat positif est similaire pour les analyses directe et indirecte chez les ovins. Elle est légèrement plus importante avec les analyses directes chez les caprins.

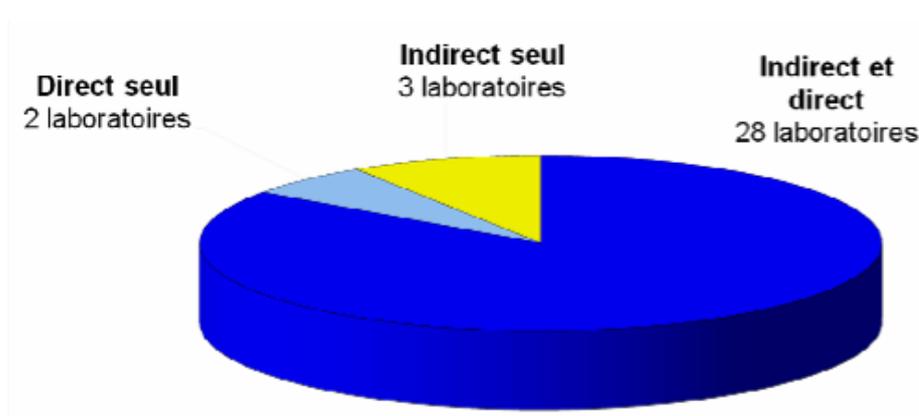
**2.2.4. Techniques d'analyses utilisées pour la fièvre Q abortive (Cf. Tableau 24 et Figure 18)**

Tableau 24 : Prélèvements analysés par les laboratoires pour la mise en évidence de la fièvre Q

	1 cotylédon	1 cotylédon et broyage	1 cotylédon et écouvillonnage	Plus d'un cotylédon (pool)	Pool et broyage	Pool et écouvillonnage
Nombre de réponses	18	8	6	5	2	2
Proportion de laboratoires	78 %	35 %	26 %	22 %	9 %	9 %

La majorité des laboratoires (78 %) ne réalisent des analyses pour la recherche de fièvre Q que sur un seul cotylédon. Le broyage et l'écouvillonnage de ce cotylédon intervient respectivement dans 35 et 26 % des cas.

Figure 18 : Méthode de diagnostic utilisée par les laboratoires pour la mise en évidence de la fièvre Q (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



Afin de détecter une infection par l'agent de la fièvre Q, 84,8 % des laboratoires ont recours à la fois à des méthodes de diagnostic direct et indirect.

**Q7 : Utilisez-vous la coloration de Stamp ?**

Dix-sept laboratoires ont répondu à l'enquête et 52 % déclarent utiliser la coloration de Stamp. De plus, cinq de ces laboratoires affirment pouvoir différencier *Coxiella*, *Chlamydophila* et *Brucella* au cours du test et neuf sont capables d'identifier un prélèvement fortement positif. Enfin, parmi ces 17 laboratoires, 14 utilisent la coloration de Stamp et la PCR comme méthodes de diagnostic direct et seulement trois l'utilisent de manière exclusive.

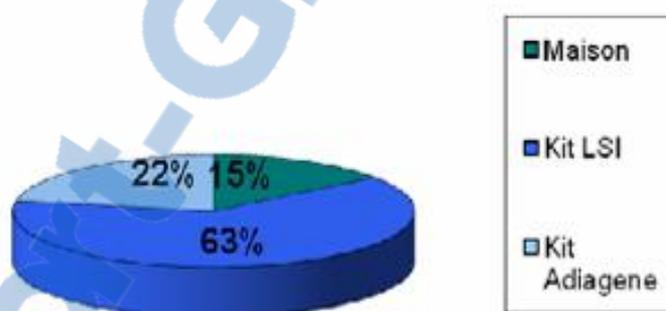
Q8 : Utilisez-vous une méthode par PCR pour la mise en évidence directe de *Coxiella* ?

Parmi les 33 laboratoires ayant répondu à l'enquête, 85 % déclarent utiliser des méthodes de diagnostic direct qui incluent toutes la technique PCR. Vint-huit laboratoires (85 %) utilisent la technique de PCR en temps réel, quatre (12 %) ont développé une technique PCR en temps réel dite « maison » et enfin 23 (70 %) utilisent une PCR en temps réel commerciale.

Par ailleurs, le gène cible des outils de la PCR est l'IS111 pour l'ensemble des laboratoires ayant renseigné cette question. Parmi les 23 laboratoires qui se servent d'une technique PCR en temps réel, 17 (63 %) déclarent utiliser le kit LSI et 6 (22 %) le kit Adiaгене (Cf. Figure 19).

Enfin, 8 laboratoires (24 %) réalisent une PCR quantitative. Quatre (12 %) utilisent selon les cas une PCR monovalente ou multivalente, 8 (24 %) ne pratiquent que des PCR monovalentes et 13 (39 %) uniquement des PCR multivalentes.

*Figure 19 : Répartition des techniques PCR commerciale, par différenciation du kit utilisé, et « maison » dans les différents laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



Q9 : S'il vous l'était proposé, participeriez-vous à des essais inter-laboratoires d'aptitude en PCRq en temps réel ?

82 % des laboratoires qui se sont exprimés sur cette question participeraient à des essais inter-laboratoires de PCR quantitative en temps réel.

Q10 : Souhaitez-vous que les laboratoires disposent des mêmes ADN standards ?

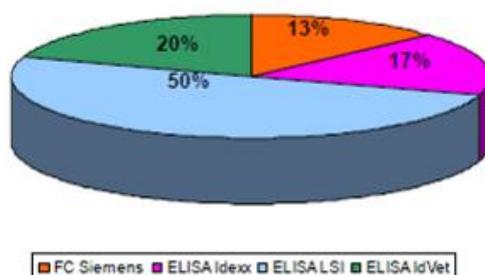
76 % des sondés a répondu favorablement à cette question.

Q11 : Quelle technique d'analyse indirecte utilisez-vous principalement ? (Cf. Figure 20)

Sur les 33 laboratoires qui ont participé à l'étude, deux déclarent ne jamais réaliser de technique d'analyse indirecte, un n'utilise que la méthode de fixation du complément et deux allient la fixation du complément et l'Elisa.

Aucun des laboratoires ne réalise d'analyse de mélange

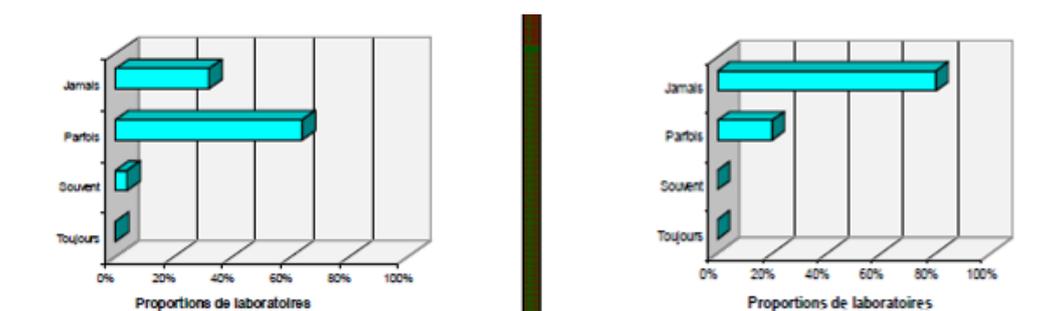
*Figure 20 : Répartition des différentes méthodes d'analyse indirectes principalement utilisées par les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



La technique principalement utilisée est l'Elisa et plus précisément celle réalisée avec le kit LSI (50 % des analyses).

Q12 : Pratiquez-vous des analyses sérologiques de mélange de sérums issus de plusieurs animaux et/ou de lait ? (Cf. Figure 21)

*Figure 21 : Proportions des laboratoires pratiquant des sérologies de mélange sur sérums ou de lait (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



Ces graphiques permettent de mettre en évidence que les analyses de mélange ne sont que peu utilisées pour la recherche de l'agent de la fièvre Q.

Q13 : Souhaitez-vous participer aux prochains essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) pour la sérologie ELISA ?

76 % des laboratoires envisageraient une participation à des tels essais.

Q14 : Souhaitez-vous que les laboratoires disposent des mêmes sérums positifs et négatifs pour contrôler les essais ?

82 % des sondés souhaiteraient que les sérums positifs et négatifs utilisés pour contrôler les essais soient identiques dans l'ensemble des laboratoires.

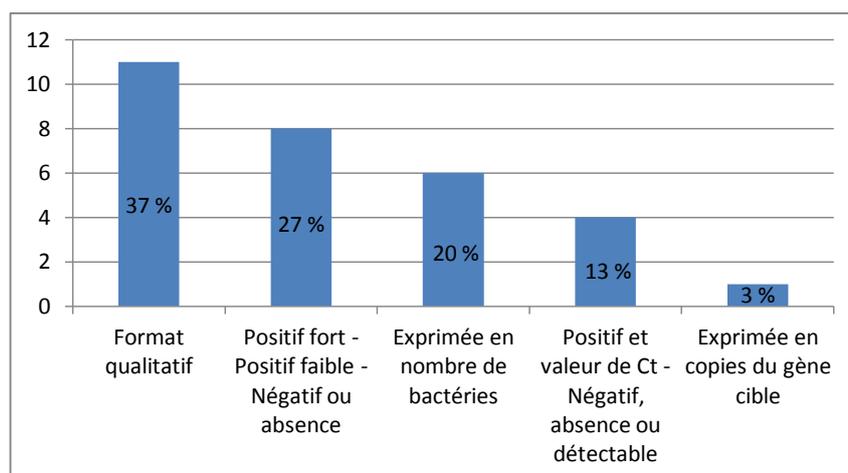
### 2.2.5. *Interprétation des résultats d'analyses utilisées pour la fièvre Q abortive*

Q15 : Sous quelle forme rendez-vous les résultats de PCR au client ? (Cf. Figure 22)

La quantification des résultats est établie à l'aide d'une gamme incluse dans chaque série d'analyse pour huit des 30 sondés ayant renseigné cette question et cette gamme est normalisée et fournie par le fabricant d'après sept des huit laboratoires utilisant cette gamme.

Lorsque les valeurs obtenues à l'issue de l'analyse sont hors des limites de quantification (trop basses ou trop élevées), le résultat est donné en exprimant la valeur quantitative pour six des huit laboratoires utilisant la méthode quantitative.

*Figure 22 : Mode de restitution des résultats PCR selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



Les résultats obtenus après une analyse PCR sont généralement qualitatifs ou semi-quantitatifs.



Q16 : Pratiquez-vous des analyses par PCR quantitative en temps réel ?

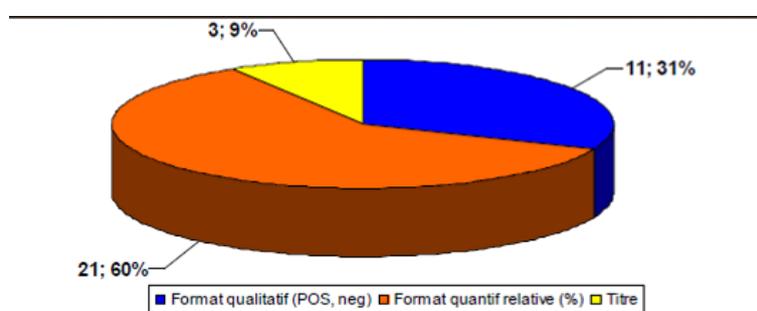
Huit des 33 laboratoires participant à l'étude (24 %) pratique la technique de PCR quantitative en temps réel.

Q17 : Sous quelle forme rendez-vous les résultats des analyses sérologiques ? (Cf. Figure 23)

Aucun laboratoire interrogé ne restitue les résultats de Densités Optiques (DO) brutes.

Par ailleurs, les seuils de positivité utilisés sont toujours ceux du fabricant.

*Figure 23 : Modes de restitutions des résultats sérologiques dans les différents laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



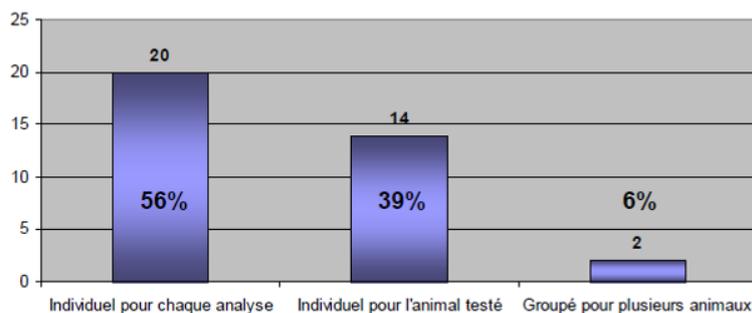
Les résultats sérologiques sont très majoritairement quantitatifs.

Q18 : Les résultats sont-ils accompagnés d'incertitude de mesures ?

Cette question n'a pas été renseignée par les laboratoires.

Q19 : Sous quel mode est rendu le résultat (individuel par analyse, par animal, groupé) ? (Cf. Figure 24)

*Figure 24 : Modes de restitution des résultats finaux selon les laboratoires (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)*



Les résultats délivrés par les laboratoires sont globalement individuels. Par ailleurs, 50 % des laboratoires rendent un résultat final individuel pour chacune des analyses réalisées.

Q20 : Connaissez-vous les propositions de l'Acersa en matière de diagnostic et de plan de maîtrise de la fièvre Q clinique en élevages de ruminants ?

A cette question 17 laboratoires ont déclaré ne pas connaître les propositions de l'Acersa alors que les 15 autres laboratoires étaient sensibilisés à cela.

Q21 : Quels sont les trois principaux éléments qui vous paraissent importants pour élaborer des modalités de diagnostic harmonisé dans les laboratoires départementaux ?

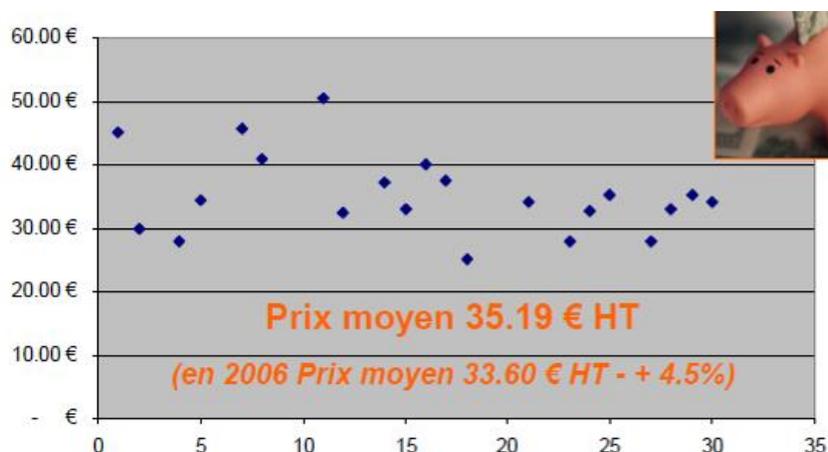
Selon les laboratoires qui se sont exprimés sur cette question, les principaux éléments à travailler pour un diagnostic harmonisé dans les départements sont :

- la standardisation des kits Elisa, PCR et des supports de prélèvement,
- la validation des analyses de mélange,
- l'harmonisation de la forme des résultats associée à une information des vétérinaires,
- la mise en place de seuil d'avortements pour déclencher les analyses avec la définition du nombre et du type d'animal à prélever,
- la mise en place d'une méthodologie de validation des tests.

### 2.2.6. Coûts des analyses pour la fièvre Q abortive

Q22 : Quel est le coût moyen d'une analyse PCR *Coxiella* dans votre département ? (Cf. Figure 25)

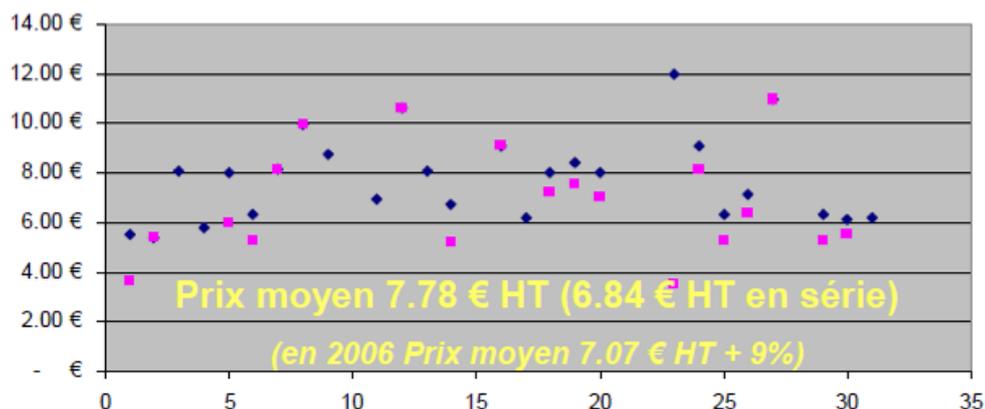
Figure 25 : Coût moyen d'une analyse PCR *Coxiella* selon le département interrogé (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



Comme indiqué sur le graphique, le coût moyen d'une analyse PCR pour la recherche de *Coxiella* est de 35,2 € Hors Taxe (HT). Il est important de noter que ce prix varie de 25 à 50 € HT selon les départements.

Q23 : Quel est le coût moyen d'une analyse sérologique dans votre laboratoire ? (Cf. Figure 26)

Figure 26 : Coût moyen d'une analyse sérologique, exemple de l'ELISA selon le département (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



Comme indiqué sur le graphique, le coût moyen d'une analyse Elisa pour la recherche de *Coxiella* est de 7,8 € HT. Il est important de noter que ce prix varie de 6 à 12 € HT selon les départements. La série bleue correspond au prix unitaire de l'analyse alors que la série rose représente le prix par série.

### 2.2.7. Capacités de stockage pour tous les types de prélèvements analysés

Q 24 : Quelles sont vos conditions et capacités de stockage de chacun des types de prélèvements ? (Cf. Figure 27)

Q25 : Les délais de stockage sont-ils soumis à une procédure qualité ?

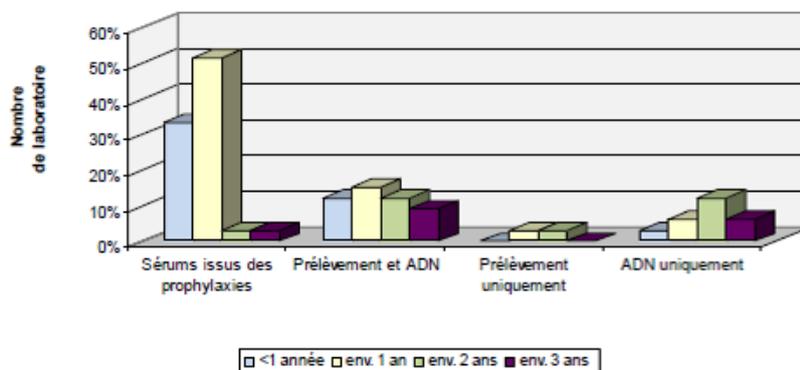
Q26 : Pouvez-vous envisager de stocker les sérums issus des prophylaxies ?

Q27 : Pouvez-vous envisager de stocker des matériels biologiques issus d'avortements autres que les sérums ?

Trente des 33 laboratoires ayant répondu à la question affirment pouvoir stocker les sérums issus de la prophylaxie. Pour 28 laboratoires, le stockage de prélèvements et/ou d'ADN est envisageable.

Aucune information n'a été fournie concernant une éventuelle procédure qualité ni même le volume de stockage disponible.

Figure 27 : Capacités temporelles de stockage des prélèvements (Extrait des Rencontres Nationales Vétérinaires BORDEAUX 2010)



D'après les informations recueillies, 50 % des laboratoires auraient la capacité de stocker les sérums issus de la prophylaxie durant une année. Très peu de laboratoires seraient en revanche à même de stocker les prélèvements seuls.

### 2.2.8. Participation à un réseau pilote de laboratoires

Q28 : Seriez-vous d'accord pour adhérer à un réseau de laboratoires ?

94 % des départements (31/33) souhaiteraient adhérer à un tel réseau.

Q29 : Avez-vous des attentes particulières sur ce futur réseau pilote ?

48 % des laboratoires (16/33) déclarent avoir des attentes particulières à propos de ce réseau. Ces attentes sont :

- le respect des contraintes imposées par le laboratoire,
- des recommandations claires sur les méthodes et interprétations,
- l'harmonisation des méthodes,
- la validation du seuil diagnostic PCRq,
- la conduite d'une réflexion sur la nécessité de la quantification en PCRq,
- la participation à des études et la valorisation du patrimoine biologique,
- le retour d'informations aux laboratoires.

- **Taux de participation de 40 %**
- **Mode d'acheminement des prélèvements : Envoi postal suivi de la navette et de l'acheminement direct**
- **Financement de l'emballage et du transport des prélèvements par le laboratoire ou la DDCSPP dans 70 % des cas**
- **Support d'analyse fourni par 70 % des laboratoires lors d'une recherche d'agents abortifs**
- **Analyse pour la recherche de *Coxiella burnetii* effectuée sur 1 seul cotylédon pour 78 % des laboratoires**
- **Utilisation simultanée d'une méthode d'analyse directe (PCR en temps réel) et indirecte (Elisa) dans 84,8 % des cas**
- **Volonté des laboratoires de participer à des essais inter-laboratoires et de collaborer pour une harmonisation des pratiques**
- **Résultats rendus sous forme quantitative pour la sérologie et qualitative ou semi-quantitative pour la PCR**

## **TROISIÈME PARTIE : Enquête inédite auprès des vétérinaires praticiens**

Après avoir abordé les observations faites par les laboratoires départementaux vétérinaires concernant les avortements chez les petits ruminants en deuxième partie, cette troisième enquête, qui est un complément des deux précédentes, va traiter du ressenti et de la situation de terrain selon les praticiens.

Cette enquête a donc été réalisée en collaboration avec les vétérinaires praticiens qui ont accepté de répondre à un questionnaire sur les cinq maladies abortives citées précédemment (Enquête 3).

### **1. Intérêts et objectifs de l'enquête 3**

Les déclarations d'avortements chez les petits ruminants sont encore peu fréquentes. Par ailleurs il semblerait que dans certaines conditions, la mise en évidence d'un agent pathogène responsable ne soit pas chose aisée. Cela peut être dû au fait que les prélèvements ne sont pas adaptés aux analyses demandées ou de mauvaise qualité, que les méthodes d'analyses utilisées par les laboratoires ne sont pas les plus sensibles pour détecter l'agent abortif, que selon le moment de l'infection il est possible de ne pas pouvoir détecter l'agent (cas du BDV si l'infection a lieu en fin de gestation) ou bien encore que la localisation de certains agents pathogènes est hétérogène dans les tissus (Glor *et al.*, 2013).

L'étude bibliographique effectuée en première partie a permis de mettre en exergue que les méthodes d'analyse sont multiples et parfois complémentaires. De nombreuses études ont été effectuées, de nombreux protocoles ont été testés et de nombreux tests sont utilisés sur le terrain. A l'heure actuelle, les procédures harmonisées de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants n'ont été définies que pour les maladies de première intention et leur mise en œuvre sur le terrain n'est encore que partielle (actions à l'initiative de départements ou de régions, parfois dans le cadre d'études). Par ailleurs, la fièvre Q fait l'objet d'une surveillance clinique au sein de dix départements pilotes et selon un protocole commun (repris dans la démarche de diagnostic différentiel précédemment citée). Dans ces départements pilotes, la volonté n'est de mettre en évidence la présence de la fièvre Q mais le fait que des séries d'avortements soient imputables à *Coxiella burnetii* ou non (Acersa, 2007 ; Maaf, 2011 a ; Maaf, 2011 b ; Arrêté du 13 Août 2012 ; De Cremoux *et al.*, 2013 a).

L'intérêt de cette enquête est donc de mettre en évidence les pratiques et/ou les attentes des vétérinaires praticiens. Au cours de cette enquête, il a, entre autre choses, été demandé aux praticiens quels prélèvements étaient réalisés sur le terrain, quelles étaient les requêtes et le ressenti des éleveurs et des vétérinaires eux-mêmes face à ces épisodes abortifs dans les élevages français.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Les interlocuteurs**

#### **2.1.1. *Choix de l'interlocuteur***

Les avortements sont un enjeu majeur pour de nombreux acteurs du monde de l'élevage. On distingue ainsi l'Etat et l'Administration représentée par les DDCSPP (Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations), les laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires (LDA et LVD) et laboratoires nationaux de référence, les vétérinaires des GDS, les vétérinaires praticiens dont certains font partie des Groupements Techniques Vétérinaires (GTV). Il existe par ailleurs des Commissions Ovine et Caprine qui sont rattachées à la SNGTV et associent des vétérinaires praticiens ou non spécialistes des petits ruminants et donc encore plus sensibles aux problèmes qui touchent ces élevages français.

Tous ces acteurs n'ont pas les mêmes préoccupations face à des épisodes abortifs. En effet, pour l'Etat, la priorité est la santé publique et cela passe par la réglementation des maladies contagieuses comme la brucellose et tout avortement est un signal d'alerte entrant dans un dispositif global de surveillance de l'émergence (fièvre de la vallée du rift) ou de la réintroduction (brucellose) de maladies d'intérêt d'Etat. Pour les éleveurs et les vétérinaires, il s'agit d'un problème de santé animale et de santé publique qui a des répercussions économique car ils doivent ensemble maîtriser, prévenir, traiter ces épisodes abortifs.

Lors de cette étude, il est question de la gestion des avortements dans les élevages de petits ruminants ainsi que de la mise en évidence des agents abortifs qui sévissent dans les régions d'élevage françaises. Les interlocuteurs privilégiés de cette étude ont donc été les vétérinaires praticiens, membres ou non des GTV, associés à quelques vétérinaires des GDS. En effet, il s'agit des intervenants les plus proches des éleveurs et de leur quotidien face aux avortements.

#### **2.1.2. *Choix de l'échantillon***

Encore une fois, cette étude a été menée avec la collaboration des vétérinaires praticiens. Les coordonnées des différents interlocuteurs sont issues de l'annuaire vétérinaire ROY® 2013. Les vétérinaires contactés étaient sélectionnés en raison de leur activité rurale et plus particulièrement ovine et/ou caprine selon l'annuaire vétérinaire. Cette participation était purement volontaire.

### **2.2. Le questionnaire**

#### **2.2.1. *Choix du support***

Pour l'enquête 3, l'usage de l'envoi par mail a été privilégié car il permettait aux vétérinaires praticiens de choisir la manière de répondre. En effet, pour cinq des vétérinaires ayant répondu à l'enquête, l'impression du questionnaire et le renvoi par courrier sont apparus comme la solution la plus simple et la plus pratique pour participer. Par ailleurs, le questionnaire a été envoyé sous différents formats simultanément (.pdf, .xls, .docx) afin d'être accessible à un maximum de personnes.

Le principe d'une enquête téléphonique n'a pas été envisagé au vu du grand nombre de vétérinaires praticiens contactés et des éventuelles relances à effectuer. De même, l'idée d'un envoi du questionnaire par courrier a été écartée car elle a été jugée trop fastidieuse, plus coûteuse et susceptible d'induire une augmentation des délais de réponse lors des échanges.

### **2.2.2. Diffusion**

Lors de l'enquête 3, le questionnaire a été envoyé par mail aux 59 vétérinaires représentants départementaux des GTV, aux 15 vétérinaires de la Commission ovine de la SNGTV ainsi qu'à 378 vétérinaires praticiens inscrits dans le Roy® 2013 comme vétérinaires ruraux dont la clientèle compte des petits ruminants. Le premier envoi a eu lieu en Juin 2013 et la dernière relance a été effectuée en Novembre 2013. Il y a eu au total six relances auprès de l'ensemble des vétérinaires contactés et qui n'avaient pas encore répondu à l'enquête.

### **2.2.3. Collecte et analyse des données**

Pour cette enquête, les réponses ont été récupérées sur boîte mail sous plusieurs formats (.pdf, .xls entre autres). Cinq autres réponses ont été reçues par courrier. La synthèse des résultats a été effectuée sur le logiciel *Microsoft Office Excel 2007*.

### 3. Résultats de l'enquête 3

#### 3.1. Enquête 3 : Méthodologie de prélèvement et d'identification d'agents abortifs ovins et caprins auprès des vétérinaires praticiens

##### 3.1.1. Participation à l'étude

Pour cette enquête, 452 mails ont été envoyés aux vétérinaires référents départementaux des GTV, aux membres de la commission ovine ainsi qu'aux vétérinaires praticiens de France référencés sur le Roy® 2013 comme vétérinaires ruraux et/ou spécialisés dans les petits ruminants. Six relances ont été effectuées et ont permis la réception de 130 réponses. Sur ces 130 réponses, seuls 55 questionnaires ont été renseignés. Les 75 praticiens qui ont répondu sans participer à l'enquête ont expliqué qu'ils ne pratiquaient plus, qu'ils ne travaillaient que très peu avec des ovins ou des caprins ou enfin qu'ils n'étaient pas ou plus praticiens en rurale (vétérinaires canins, équins, réorientation vers un travail de laboratoire ...).

Le taux de participation à cette étude est donc d'environ 15% si l'on exclue les 75 vétérinaires qui n'exercent pas en petits ruminants. Il est à noter que seulement 30 % des vétérinaires qui se sont exprimés appartiennent à des départements pilotes fièvre Q. Il semble donc que ce projet pilote, mené par leur département d'exercice, ne pousse pas forcément les vétérinaires à s'impliquer plus massivement dans une telle étude.

Pour l'étude des résultats, les réponses des vétérinaires ont été prises en compte par département. Ainsi, les départements inclus dans l'étude comptaient un à huit personnes ayant répondu. Il s'agit de l'Ain, l'Aisne, l'Allier, l'Ardèche, les Ardennes, l'Ariège, l'Aveyron, la Charente, la Corrèze, la Creuse, la Drome, l'Eure, le Finistère, la Haute-Garonne, la Gironde, l'Île et Vilaine, l'Indre, l'Indre et Loire, l'Isère, la Lozère, le Maine et Loire, la Meuse, le Morbihan, la Moselle, les Pyrénées Atlantiques, les Hautes-Pyrénées, la Saône et Loire, les Deux Sèvres, le Tarn, la Vendée, la Vienne, la Haute Vienne et la Corse (Cf. Figure 28).

Figure 28 : Les départements d'exercice des vétérinaires ayant répondu au questionnaire

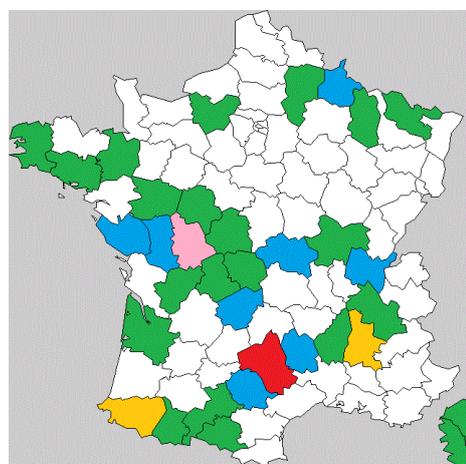
En vert : un vétérinaire praticien a répondu à l'enquête dans le département.

En bleu : deux vétérinaires ont répondu.

En jaune : trois vétérinaires ont répondu.

En rose : quatre vétérinaires ont répondu.

En rouge : huit vétérinaires ont répondu.

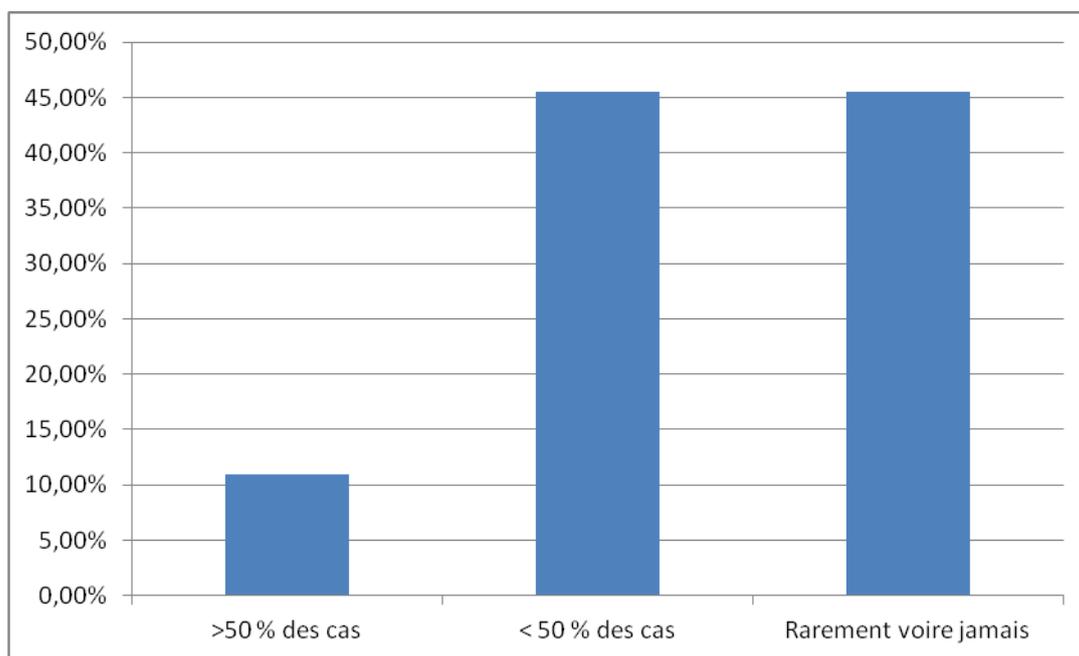


Parmi les 55 vétérinaires ayant participé à l'enquête, 16 sont issus de six des dix départements pilotes fièvre Q cités en première partie. L'Aveyron, qui fait parti de ces départements pilotes est le département qui compte le plus de participants avec huit vétérinaires répondants.

### 3.1.2. *Appréciation du niveau de déclaration des éleveurs*

Q1 : Dans quelle proportion estimez vous que les éleveurs déclarent un avortement ou une série d'avortements ponctuels ovin/caprin ? (Cf. Figure 29)

Figure 29 : Proportion des éleveurs déclarant un avortement ou une série d'avortements ponctuels



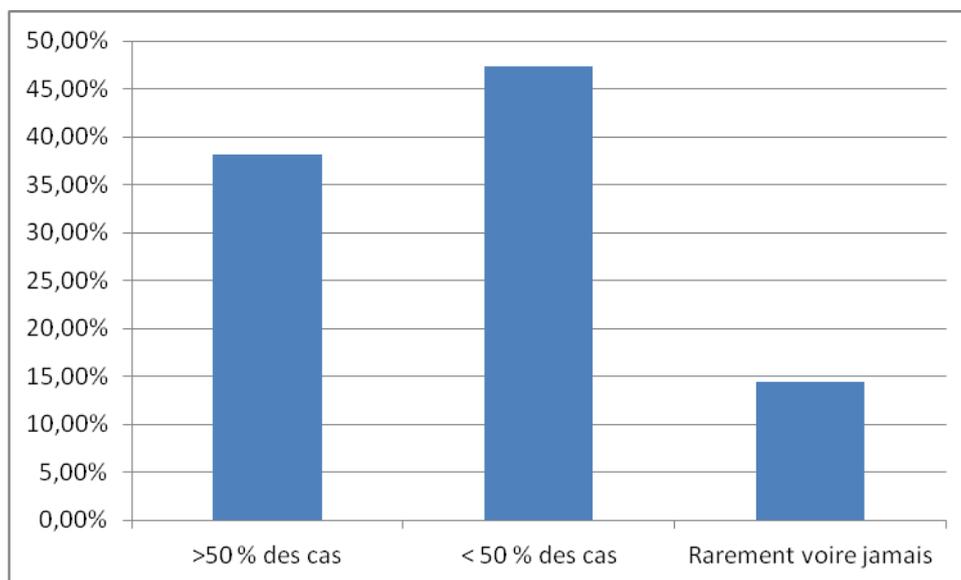
Au vu de ces résultats, il semble que 90 % des éleveurs ne déclarent pas les avortements ponctuels ou les déclarent dans moins de 50 % des cas. Seuls les vétérinaires des départements du Tarn, de la Lozère, de la Drôme et des Ardennes pensent que les éleveurs déclarent des épisodes abortifs dans au moins 50 % des cas.

Lors d'un avortement ou d'une série d'avortements ponctuels, les déclarations sont donc peu fréquentes.

Les vétérinaires appartenant à des départements pilotes fièvre Q déclarent à 62,5 % que les avortements sont déclarés dans moins de 50 % des cas. Pour 31,3 % d'entre eux, les avortements ne sont que rarement voire jamais déclarés.

Q2 : Dans quelle proportion estimez-vous que les éleveurs déclarent plusieurs avortements groupés (3 et +) ? (Cf. Figure 30)

*Figure 30 : Proportion des éleveurs déclarant plusieurs avortements groupés*



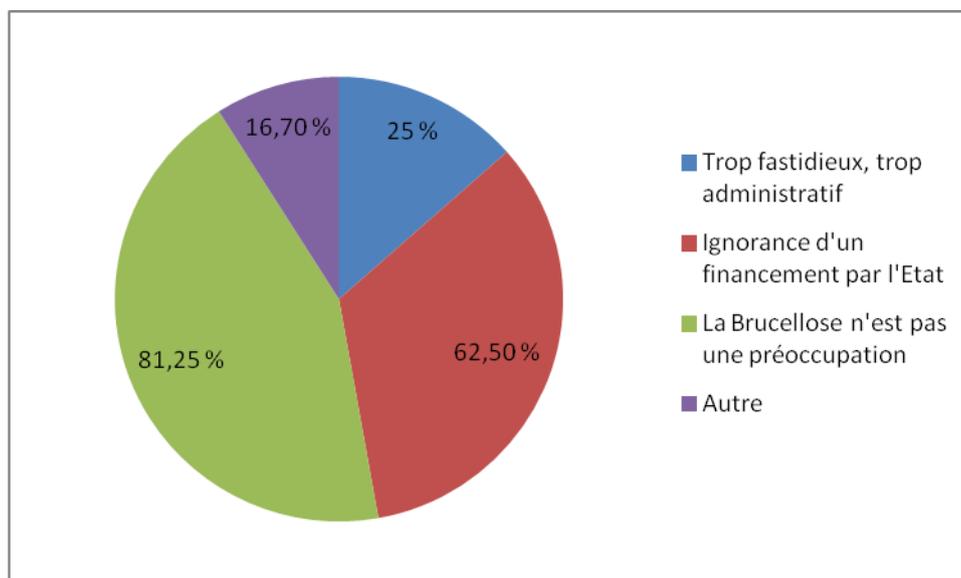
Lors de la survenue d'avortements groupés, les déclarations d'avortements par les éleveurs sont plus fréquentes même si elles restent inférieures à 50 % des cas pour la majorité des vétérinaires. Sur les 33 départements qui participent à l'enquête, sept déclarent ne déclarer ces avortements que rarement voire jamais malgré un épisode d'ordre épizootique.

Les mêmes résultats sont observés pour les vétérinaires des départements pilotes fièvre Q. En effet, 31,2 % déclarent des avortements groupés dans plus de 50 % des cas alors que 62,5 % des praticiens ne les déclarent que dans moins de 50 % des cas.

D'après six vétérinaires interrogés, les éleveurs déclarent plus facilement un avortement lorsqu'il survient précocement durant la gestation et qu'il engendre une agalactie sur la mère. Ceci est uniquement visible pour les troupeaux laitiers.

Q3 : Pour vous, quel est le frein à la déclaration d'avortement ovin/caprin ? (plusieurs réponses possibles) (Cf. Figure 31)

Figure 31 : Motif de non déclaration des avortements chez les petits ruminants



Tout d'abord, pour la plupart des vétérinaires, le frein majeur à la déclaration d'avortement est l'ignorance des éleveurs d'un quelconque financement pour aider à la mise en évidence d'agents abortifs (62,5 %) et le fait que la brucellose ne présente que peu d'intérêt aux yeux des éleveurs (81 %). C'est aussi ce qui ressort de l'analyse des résultats pour les vétérinaires des départements pilotes fièvre Q avec respectivement 50 et 62,5 % d'exprimés pour les deux propositions précédemment citées.

Parmi les huit départements qui ont répondu « Autre » à cette question, deux ont évoqué une ignorance de l'obligation de déclaration et deux autres décrivaient une peur des regards des élevages voisins ou de sanctions selon les agents mis en évidence lors des analyses. De plus, pour deux autres départements les résultats d'analyses n'ont que peu d'intérêt aux yeux des éleveurs, pour trois autres sondés cette non déclaration s'explique par un manque de temps et de motivation (enjeu économique notamment) et enfin un vétérinaire a mis en avant le problème du coût des analyses.

Q4-1 : Pensez-vous que l'on devrait obliger l'éleveur à ne réaliser une déclaration qu'après plusieurs avortements ?

A cette question, 35,5 % des vétérinaires exprimés ont répondu négativement. Cependant, 81,3 % des vétérinaires des départements pilotes se sont exprimés positivement.

Q4-2 : A partir de combien d'avortements en moins d'une semaine ?

Parmi les vétérinaires qui désirent que la déclaration d'avortement ne soit effective qu'après plusieurs avortements, 92,5 % souhaite que le seuil soit de trois avortements en une semaine ce qui correspond au protocole fièvre Q explicité précédemment. D'ailleurs, 68,8 % des vétérinaires

suivant le protocole fièvre Q l'ont plébiscité. Il est à noter que seulement 72,7 % (N=40) des vétérinaires qui ont répondu à l'enquête ont répondu à cette question.

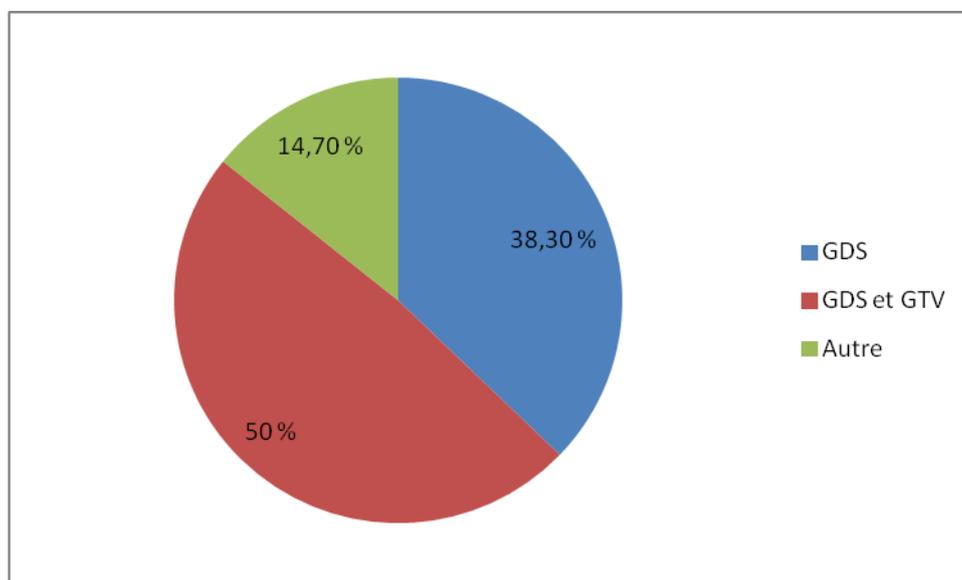
### 3.1.3. Les prélèvements en vue d'un diagnostic étiologique

#### Q5 : Existe-t-il un protocole « avortement » ?

D'après les résultats obtenus, 76 % des vétérinaires déclarent disposer d'un protocole qui définit la marche à suivre pour effectuer les prélèvements nécessaires à la mise en évidence d'agents abortifs. Ils sont 93,8 % de vétérinaires dans les départements pilotes fièvre Q à répondre la même chose.

#### Q6 : Qui l'a mis en place ? (Cf. Figure 32)

Figure 32 : Distribution des instaurateurs d'un protocole de déclaration d'avortement, dans les différents départements, selon les vétérinaires praticiens



Dans 88,3 % des départements qui se sont exprimés dans cette enquête, le GDS est à l'origine de la mise en place d'un protocole avortement. Les résultats sont sensiblement les mêmes pour les vétérinaires des départements pilote.

Six vétérinaires ont répondu « Autre » à cette question. Ils ont cité l'Association Vétérinaires Eleveurs du Millavois (Avem) et le Syndicat Caprin chacun à une reprise et la DDSCPP et le laboratoire départemental ont quant à eux été cités deux fois.

#### Q7 : A propos du financement de ces protocoles avortement, quelle est la situation dans votre département (plusieurs réponses possibles) ? (Cf. Tableau 25)

Six vétérinaires (10,9 %) ne se sont pas exprimés sur cette question.

Tableau 25 : Structures assurant le financement des protocoles de mise en évidence des agents abortifs selon les vétérinaires praticiens

	Financement par :		
	GDS	Conseil général / régional	Pas de financement
Nbr de sondés	36	18	6
Proportion	73,5 %	36,8 %	12,2 %

Pour 73,5 % des vétérinaires, le GDS aide au financement des analyses pour la mise en évidence d'agents abortifs. Il est à noter que dans 12,2 % des départements qui ont participé à cette enquête, aucun financement n'existe pour ce protocole avortement.

Dans les départements pilotes fièvre Q, deux vétérinaires ont déclaré ne pas connaître les structures assurant le financement des protocoles d'avortement malgré l'existence de ce financement. De plus, 62,5 % des vétérinaires ont répondu que le financement était pris en charge par le GDS. Enfin, 37,5 % des vétérinaires déclarent que le financement est assuré, au moins en partie, par le Conseil général / régional.

Q8 : S'il y a un financement par le GDS, quelles sont les conditions de prise en charge (plusieurs réponses possibles) ? (Cf. Tableau 26)

La condition de prise en charge est le fait d'être adhérent au GDS selon l'un des vétérinaires. Il est à noter que 12 vétérinaires ne se sont pas exprimés sur ce point.

Tableau 26 : Conditions de prise en charge financière par le GDS selon les vétérinaires praticiens

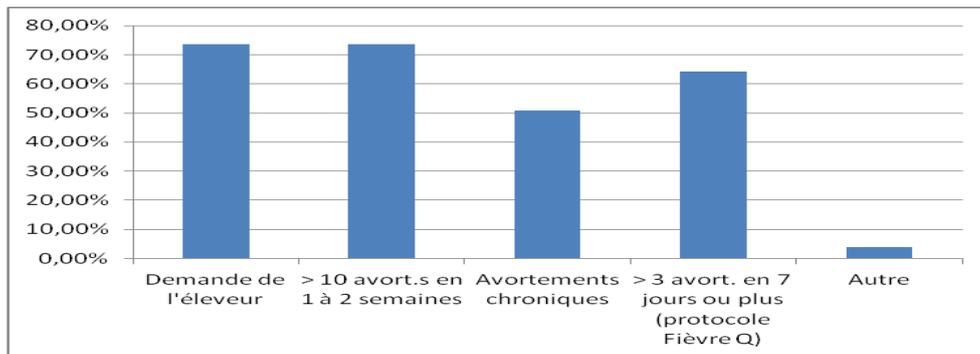
	Conditions à la prise en charge			
	Déclaration d'avortement préalable	Recherche d'agent étiologique préalable	Nbr d'avortements	Ne sait pas
Nbr de sondés	24	8	19	5
Proportion	55,8 %	18,6 %	44,2 %	11,6 %

Les principales conditions de prise en charge financière des analyses en vue d'un protocole avortement sont la déclaration préalable d'avortement dans 55,8 % des départements et le nombre d'avortements dans 44,2 % des cas. Pour près de 12 % des vétérinaires, les conditions pour obtenir

une aide ne sont pas connues. Les résultats sont sensiblement les mêmes pour les vétérinaires des départements pilotes fièvre Q.

Q9 : Qu'est ce qui, pour vous, motive la demande d'analyse (plusieurs réponses possibles) ? (Cf. Figure 33)

Figure 33 : Motifs principaux d'une demande d'analyse pour la recherche d'agents abortifs (53 exprimés)



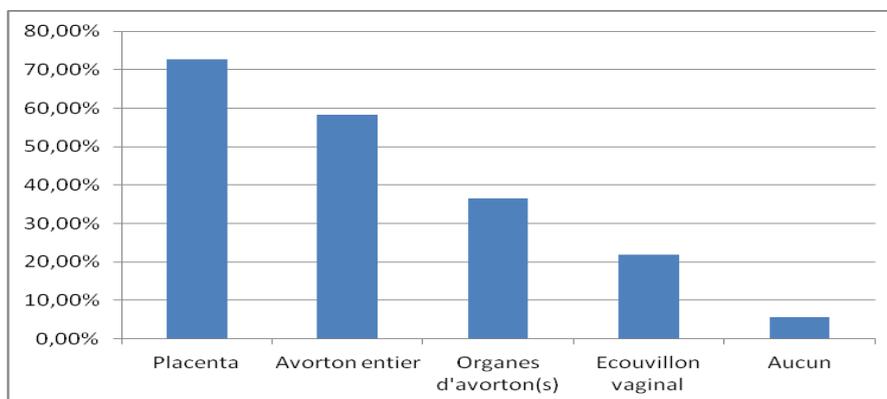
Les résultats de cette question font écho aux deux premières questions de l'enquête. En effet, la demande d'analyse est effectuée lorsqu'un épisode abortif survient sur un temps très court (73,6 % et 64,2 % pour les épisodes abortifs entrant dans le protocole fièvre Q) et cette demande n'est principalement réalisée que lorsque l'éleveur en est à l'origine (73,6 %).

D'après deux vétérinaires, la demande d'analyse pourrait être plus systématique si le financement était de 100 % dès les premiers avortements et si l'éleveur était plus sensibilisé aux pertes directes et indirectes qu'entraînent des épisodes abortifs.

Dans les départements pilotes fièvre Q, 75 % des vétérinaires déclarent que la demande de l'éleveur est le principal motif à l'initiative d'une demande d'analyse. Les épisodes abortifs entrant dans le protocole fièvre Q ont été cités par 56,3 % des vétérinaires.

Q10 : Outre les prélèvements sanguins sur l'animal avorté et sur des congénères, quels types de prélèvements effectuez-vous (plusieurs réponses possibles)? (Cf. Figure 34)

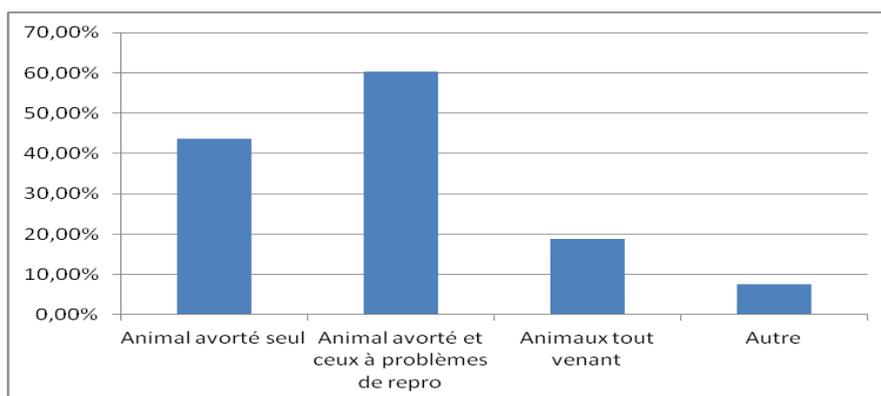
Figure 34 : Prélèvements effectués en complément des prises de sang lors d'une recherche d'agent abortif (55 exprimés)



Le placenta est le prélèvement le plus effectué s'il est encore disponible lors de la venue du vétérinaire. Il faut noter que les avortons ou organes d'avortons sont prélevés par plus de 90 % des vétérinaires qui ont répondu à cette question. Il faut noter aussi que pour un vétérinaire sur 20, seuls les prélèvements sanguins sont réalisés lors d'un protocole d'avortement.

Q11 : Sur quels animaux effectuez-vous vos prélèvements (prise de sang) lors d'un protocole d'avortement ? (Cf. Figure 35)

Figure 35 : Animaux prélevés lors de la mise en place d'un protocole avortement



Dans la majorité des départements, près de 80 % des cas, les prélèvements pour la mise en évidence d'agents abortifs sont réalisés sur plusieurs animaux de l'élevage mais dans plus de 40 % des cas, seuls les animaux avortés font l'objet de prélèvements.

Les quatre vétérinaires qui ont répondu « Autre » ont précisé le nombre de prélèvements effectués. Deux d'entre eux réalisent des prises de sang sur 10 animaux lors de l'initiation du protocole avortement (conforme au protocole fièvre Q) et les deux autres ne prélèvent que cinq à six animaux et ces prises de sang sont toujours accompagnées d'écouvillons vaginaux (au moins trois).

Pour les vétérinaires des départements pilotes, huit ont répondu qu'ils ne prélevaient que l'animal avorté alors que huit autres déclarent prélever l'animal avorté et d'autres femelles ayant des problèmes de reproduction.

Q12 : Comment se passe le transport des prélèvements vers le laboratoire départemental (plusieurs réponses possibles) ? (Cf. Tableau 27)

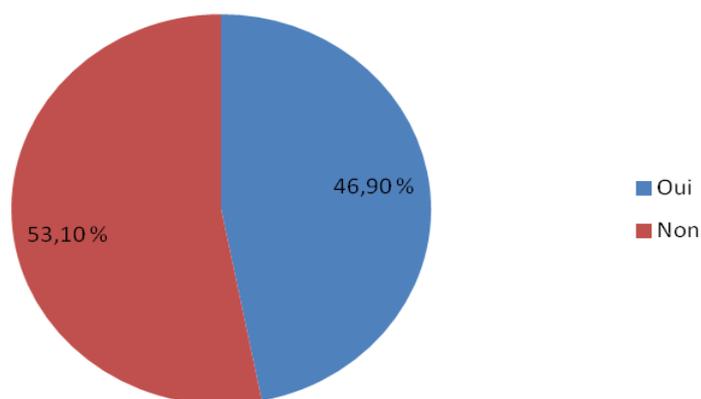
Tableau 27 : Modes d'acheminement des prélèvements vers les laboratoires départementaux

	Proportion	
Collecte	57,40 %	
Envoi postal	35,20 %	
Autre	Par le vétérinaire	9,30 %
	Par l'éleveur	11,10 %
	Par GDS	1,90 %
	Par colissimo ou envoi express	5,60 %
	Dépôt dans un point relais (pharmacie, bus scolaire)	2,80 %

La collecte, par une navette mise à disposition par le laboratoire, reste le mode d'acheminement le plus utilisé dans les différents départements (57,4 %). Ce taux est de 68,8 % pour les vétérinaires des départements pilotes fièvre Q.

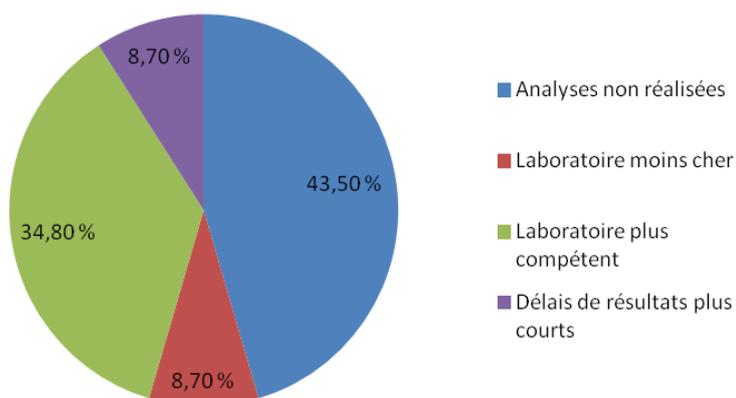
Q13 : Vous arrive-t-il d'envoyer des prélèvements vers d'autres laboratoires que le laboratoire départemental ? Si oui, pourquoi ? (Cf. Figures 36 et 37)

Figure 36 : Proportion de vétérinaires faisant appel à d'autres laboratoires que leur laboratoire départemental



Un vétérinaire sur deux déclare faire appel à un laboratoire autre que son laboratoire départemental pour la recherche d'agents abortifs. En revanche, pour les vétérinaires des départements pilotes fièvre Q, 75 % de ceux qui se sont exprimés déclarent qu'ils ne font pas appel à un autre laboratoire que le leur.

Figure 37 : Motifs d'envoi vers un autre laboratoire que leur laboratoire départemental pour les vétérinaires



Dans la majorité des cas, la sollicitation d'un laboratoire départemental voisin est justifiée par le fait que ce dernier est plus compétent, moins cher, plus efficace que le département d'exercice du vétérinaire (52,2 %).

Q14 : A quelle température stockez-vous les prélèvements avant de les envoyer ? (Cf. Tableau 28)

Tableau 28 : Modes de stockage des prélèvements par les vétérinaires avant de les envoyer au laboratoire d'analyse

	Modes de stockage	Nombre de réponses	Proportion
<b>Prise de sang</b>	Stockage sous froid positif immédiat	34	70,8 %
	Froid positif après 12h à température ambiante	11	22,9 %
	Pas de stockage, envoi immédiat sous froid positif	3	6,3 %
	Autre	2	4,2 %
<b>Placenta, avorton entier, organes</b>	Stockage sous froid positif immédiat	41	85,4 %
	Congélation	3	6,3 %
	Pas de stockage, envoi immédiat sous froid positif	6	12,5 %
	Autre	4	8,3 %

Sept vétérinaires ne se sont pas exprimés sur ces modes de stockage.

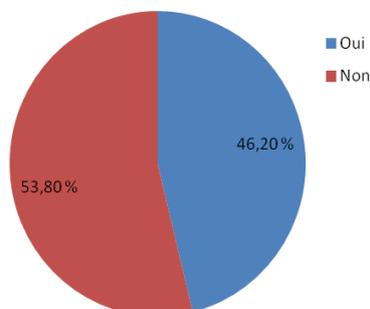
Dans 70 % des cliniques vétérinaires, les prises de sang sont stockées sous froid positif immédiatement après leurs prélèvements. C'est aussi ce qui est pratiqué pour les prélèvements de placenta, avortons et organes dans 85,4 % des cas.

Les deux vétérinaires qui ont répondu « Autre » à la question concernant le stockage des prises de sang ont déclaré les conserver à température ambiante. En ce qui concerne les quatre vétérinaires qui ont répondu « Autre » à la question sur les autres prélèvements, l'un a précisé respecter la règle du triple emballage, un autre a déclaré conserver les prélèvements dans sa voiture avant de les placer sous froid positif, un troisième a expliqué que les avortons n'étaient pas conservés mais qu'ils étaient directement transportés au laboratoire par l'éleveur et enfin le dernier a répondu qu'il stockait les prélèvements dans une boîte de conditionnement fournie par le laboratoire d'analyse (envoi pratiquement immédiat avec un dispositif de refroidissement).

Les résultats sont sensiblement identiques pour les 16 vétérinaires des départements pilotes fièvre Q.

Q15 : Existe-t-il un protocole de prélèvement et d'envoi défini par le laboratoire de votre département et/ou par le GDS et/ou la SNGTV (Société Nationale des Groupements techniques vétérinaires) ? (Cf. Figure 38)

*Figure 38 : Part des vétérinaires qui déclarent l'existence d'un protocole de prélèvement et d'envoi dans leur département*



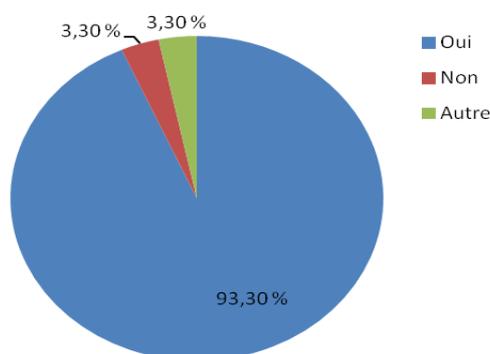
Trois vétérinaires n'ont pas renseigné cette question.

Dans la majorité des départements français (53,8 %), il n'existe pas de protocole de prélèvement et d'envoi défini par le laboratoire départemental ou bien ce dernier n'est pas connu des vétérinaires. Ce rapport s'inverse dans les départements pilotes fièvre Q puisque 56,3 % des praticiens déclarent disposer d'un tel protocole.

Pour un vétérinaire, le protocole de prélèvement et d'envoi a été établi par un laboratoire situé dans le département voisin au sien. Un autre vétérinaire a expliqué que ce protocole correspondait à la réglementation ADR (Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route) de la Direction de l'Environnement, l'Aménagement et du Logement (DEAL). Cependant, cette réglementation est uniquement relative au mode d'envoi des prélèvements (règle du triple emballage).

Q16 : Les prélèvements sont-ils analysés en cas de non respect des protocoles d'envoi lorsqu'ils existent ? (Cf. Figure 39)

*Figure 39 : Part des prélèvements analysés malgré un non respect des protocoles d'envoi*



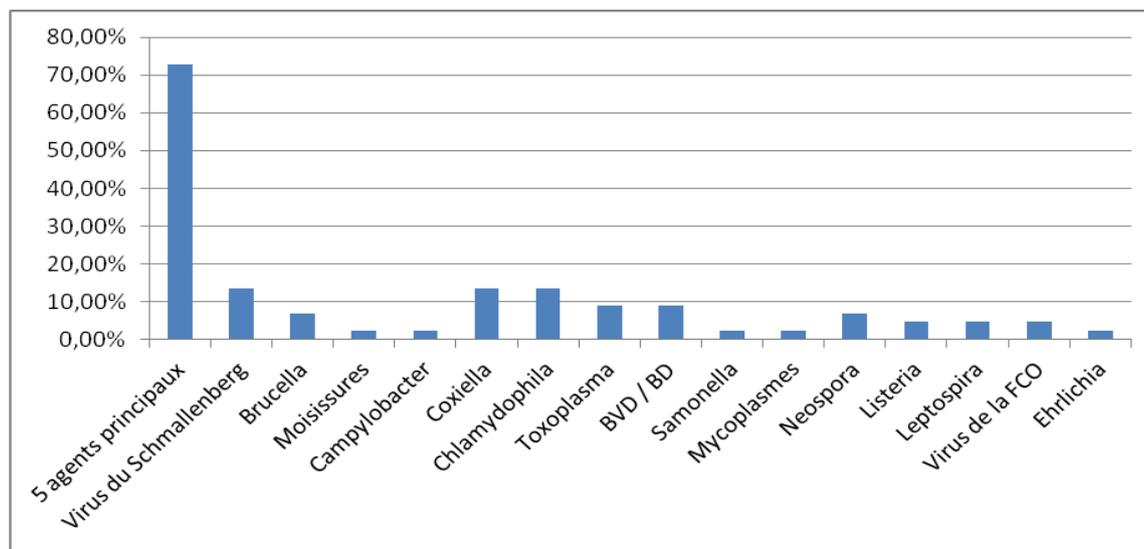
Cette question a permis de mettre en évidence que malgré l'absence d'un protocole de prélèvement et d'envoi dans un département, les prélèvements seront presque toujours analysés que ce dernier soit respecté ou non (93,3 %).

Un vétérinaire a renseigné la proposition autre car aucun protocole n'existe dans son département en matière d'envoi des prélèvements. Vingt-cinq vétérinaires n'ont pas répondu à cette question.

Q17 : Quels sont les agents recherchés en première intention ? (Cf. Figure 40)

Onze vétérinaires n'ont pas répondu à cette question.

Figure 40 : Agents recherchés en première intention face à un épisode abortif



Dans plus de 70 % des cas, les cinq agents abortifs principaux traités au cours de ce travail sont ceux recherchés simultanément. Plus particulièrement, dans les départements pilotes fièvre Q, ce taux est de 62,5 %.

Q18 : Parmi ces 5 principales maladies abortives (fièvre Q, chlamydie, salmonellose, Border disease et toxoplasmose, lesquelles considérez vous comme fréquentes sur votre clientèle : classez les par ordre d'importance ? (Cf. Tableau 29)

*Tableau 29 : Classement par ordre d'importance des 5 maladies abortives principales selon les vétérinaires praticiens*

	1ere maladie citée	2 <sup>e</sup> maladie citée	3 <sup>e</sup> maladie citée	4 <sup>e</sup> maladie citée	5 <sup>e</sup> maladie citée	Rang moyen
<b>Chlamydie</b>	19	18	7	1	0	1,8
<b>Fièvre Q</b>	22	13	10	4	0	1,9
<b>Toxoplasmose</b>	5	14	17	9	1	2,7
<b>Salmonellose</b>	1	3	6	10	10	3,8
<b>Border Disease</b>	1	1	2	7	12	4,2

Les cinq maladies abortives principales sont les plus recherchées en première intention. Cependant, l'agent le plus fréquemment recherché parmi les cinq cités à la question précédente varie en fonction des départements. Si l'on attribue un point à chaque maladie lorsqu'elle est classée en première position par l'un des vétérinaires et que l'on divise la somme des points obtenus par le nombre de réponses, on obtient un rang moyen pour chaque maladie. On note alors que la salmonellose abortive ovine et la Border disease sont généralement citées en 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> positions et cela peut s'expliquer par leur prévalence très variable selon les régions françaises.

### 3.1.4. Sensibilisation et formations sur les avortements et leurs déclarations

Q19 : Des formations sur la gestion des avortements vous sont-elles proposées ? (Cf. Tableau 30)

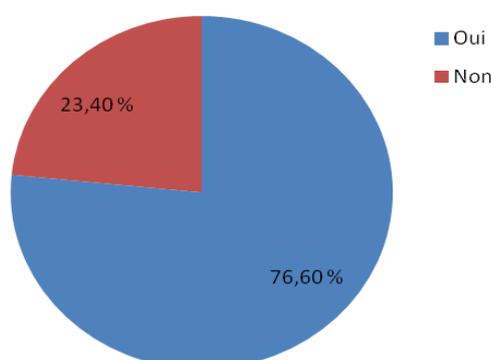
Tableau 30 : Structures proposant des formations sur la gestion des avortements aux vétérinaires praticiens (48 exprimés)

		Proportion
Par la SNGTV	Niveau national	50 %
	Niveau régional	22,9 %
	Niveau départemental	31,3 %
Dans le mandat sanitaire		66,7 %
Autre		14,6 %

Pour une majorité de vétérinaires, les formations sur les avortements des petits ruminants sont proposées dans le mandat sanitaire (66,7 %) et par des propositions nationales de la SNGTV (50 %).

Q20 : Participez-vous à ces formations ? (Cf. Figure 41)

Figure 41 : Part des vétérinaires praticiens qui participent aux formations proposées



Les 3/4 des vétérinaires qui se sont exprimés participent à ces formations (76,6 %). Sur les treize vétérinaires qui ont déclaré ne pas participer aux formations, les raisons exprimées sont :

- le faible nombre de dates et l'éloignement des lieux de formation pour deux vétérinaires,
- le manque de temps pour deux vétérinaires,
- le faible nombre d'ovins et de caprins dans la clientèle pour quatre vétérinaires,
- l'accès à assez d'informations par internet ou les laboratoires départementaux d'analyse.

### *3.1.5. Attentes et ressentis face à la situation actuelle*

#### Q21 : Quelle est votre attente vis-à-vis des protocoles de diagnostic différentiel d'avortements ovin/caprin ?

Cinquante deux vétérinaires ont répondu à cette question et parmi eux, 96,2 % attendent des protocoles de diagnostic différentiel d'avortements chez les petits ruminants qui les guident dans leurs diagnostics. Ils sont 87,5 % dans les départements pilotes fièvre Q. Pour deux autres vétérinaires, ces protocoles doivent être un outil pour augmenter le taux d'élucidation lors de la recherche d'agents abortifs et uniformiser les pratiques (prélèvements et techniques d'analyse) dans l'ensemble du territoire.

Quatre vétérinaires (7,7 %) souhaitent que les protocoles incluent l'interprétation directe des résultats par le laboratoire.

#### Q22 : Selon vous, quel est le ressenti des éleveurs vis-à-vis des protocoles de diagnostic différentiel d'avortements ovin/caprin ?

Sept vétérinaires n'ont pas répondu à cette question.

Pour 35,4 % des vétérinaires, les protocoles de diagnostic différentiel en matière d'avortement représentent, pour les éleveurs, un coût financier et n'apportent pas de réponses suffisantes. En revanche, ces protocoles sont un bon outil de diagnostic malgré le coût financier du point de vue des éleveurs pour 60,4 % des vétérinaires qui ont renseigné cette question.

#### Q23 : Quel est votre ressenti par rapport aux résultats d'analyses que vous recevez après la mise en place du protocole d'avortement?

Les résultats d'analyse reçus semblent acceptables pour la majorité des vétérinaires. En effet, ils permettent d'éliminer certaines étiologies pour 34 % des sondés ou d'arriver à une suspicion d'agent abortif pour 46 %. De plus, ces résultats sont jugés intéressants par 28 % des vétérinaires exprimés et représentent une réelle aide pour 6 % d'entre eux.

En revanche, ces analyses sont qualifiées de décevantes par 16 % des vétérinaires mais cela s'explique par des problèmes dans l'interprétation des résultats ou par la réalisation de prélèvements de mauvaise qualité pour 8 % des sondés.

## QUATRIÈME PARTIE : Discussion

Dans cette quatrième et dernière partie il sera question de discuter la pertinence des résultats obtenus au cours des trois études présentées précédemment. De plus, un bilan des informations clés sera effectué. Ces informations sont relatives à la déclaration d'avortements, aux choix des prélèvements et des analyses pour la réalisation d'un diagnostic différentiel d'agent abortif ainsi qu'à la gestion des épisodes abortifs par les vétérinaires praticiens et les LVD dans les élevages ovins et caprins français.

Tout d'abord, les limites de l'enquête 3 vont être analysées et les résultats de cette enquête seront mis en relation avec les résultats des enquêtes 1 et 2 ainsi qu'avec les données actuelles françaises sur l'état des lieux et la gestion des avortements chez les petits ruminants.

Il est à noter que les limites des enquêtes 1 et 2 ne seront pas traitées puisque ces deux enquêtes ont été menées par des organismes professionnels plusieurs mois ou années avant la réalisation de ce travail. Elles sont donc un complément d'information ainsi qu'une base de travail pour l'enquête 3 puisqu'elles permettent de fournir une analyse de la situation d'après les laboratoires vétérinaires alors que la dernière enquête n'est basée que sur les vétérinaires praticiens. On a ainsi un travail sur l'ensemble des étapes que compte un protocole de diagnostic différentiel d'avortement : du prélèvement au résultat d'analyse.

Par ailleurs, on peut tout de même noter que depuis la réalisation de ces deux premières enquêtes, des protocoles ont été définis et diffusés, qu'une surveillance de la fièvre Q clinique a été mise en place dans 10 départements et que de ce fait :

- la sensibilisation aux avortements et leur déclaration a été croissante,
- le recours à des PCR quantitative s'est développé particulièrement en matière de FQ,
- la définition de l'avortement et les critères d'alerte et de déclaration ont changé (GDS Rhône-Alpes, GTV Rhône-Alpes, VetAgro Sup, 2010 et GDS Rhône-Alpes, GTV Rhône-Alpes, VetAgro Sup, 2014).

Ceci résulte d'une dynamique de travail de l'ensemble des intervenants dans le domaine des élevages de petits ruminants. De plus, les enquêtes 1 et 2 ont été des compléments et des étapes dans l'élaboration d'une démarche harmonisée pour le diagnostic différentiel d'avortements.

### 1. Limites de l'enquête 3

#### 1.1. Population ayant participé à l'enquête

Lorsque l'on étudie la population de vétérinaires praticiens ayant répondu à l'enquête, il s'avère que cette population ne peut pas être qualifiée de représentative. En effet, aucun tirage au sort n'a été réalisé.

Seuls les vétérinaires de 33 départements sur les 93 départements français contactés ont participé à l'enquête. Cependant, 16 des vétérinaires interrogés appartiennent à des départements pilotes fièvre Q et les départements regroupant les ovins et les caprins de France sont généralement représentés (Institut de l'Élevage, 2000). En revanche, dans de nombreux cas, un seul vétérinaire du département s'est exprimé. D'après des données fournies par le Bureau de Maitrise d'Ouvrage des Systèmes d'Information de l'Alimentation (BMOSIA), en 2014, 4 032 cabinets vétérinaires français ou vétérinaires exerçant seuls disposent d'au moins un mandat sanitaire ovin et/ou caprin. Cela fait écho aux données de l'Ordre National des Vétérinaires (2013) puisque d'après leur bilan statistique, 4 636 vétérinaires auraient des compétences en animaux de rente. Si l'on tient compte de ces données, il s'avère que seul 1,4 % des vétérinaires exerçant en petits ruminants ont répondu à l'enquête. Cependant, ces chiffres sont à discuter puisque les vétérinaires sanitaires de propriétaires de brebis ou chèvres « de compagnie » ont été pris en compte dans ce dénombrement.

De plus, le formulaire a été envoyé à 452 vétérinaires ou cliniques vétérinaires : 27,9 % (126) des sondés ont répondu au mail et 12,2 % de ces vétérinaires ont renseigné le questionnaire. Parmi ces 126 réponses, 51,6 % des vétérinaires ont répondu qu'ils ne correspondaient pas au profil recherché (vétérinaires qui ne pratiquent plus ou tout du moins pas avec des petits ruminants). Il apparaît ainsi que les informations fournies par l'annuaire *Roy®2013* ne sont pas à jour ou fausses puisque seuls les vétérinaires référencés « ovins » ou « caprins » ont été contactés. Enfin, six vétérinaires ont répondu au mail mais n'ont pas complété le questionnaire par manque de temps ou d'intérêt pour cette enquête.

Il est ainsi à noter que le taux de participation à l'enquête semble mauvais aux vues des taux observés dans les enquêtes 1 et 2 par exemple (31 et 40 %) ou dans une autre étude effectuée auprès des vétérinaires par Coulibaly *et al.*, 2004 (taux de 33,2 %). Cependant, cette faible implication des praticiens lors de cette troisième enquête est relative puisque comme cela a été précisé précédemment, la population sollicitée ne correspondait pas totalement à la population cible de l'étude (erreurs dans l'annuaire Roy sur le domaine d'activité de bon nombre de vétérinaires).

## **1.2. Protocole d'enquête**

### ***1.2.1. Canal de communication : l'envoi du questionnaire par mail***

#### **1.2.1.a. Choix du canal de communication**

L'envoi du questionnaire par mail a été critiqué par cinq vétérinaires qui ont d'ailleurs imprimé le formulaire et l'ont renvoyé par mail. Deux choses ont été reprochées : l'un des vétérinaires ne parvenait pas à ouvrir le document malgré l'envoi sous trois formats différents (.doc, .docx et .pdf) et pour les quatre autres, il n'était pas pratique de compléter le document par informatique. On peut ainsi se demander si un questionnaire en ligne n'aurait pas été plus pratique à renseigner. Il aurait par ailleurs eu l'avantage de permettre des relances et un traitement des données simplifié et plus rapide. Cependant, la question de la maîtrise de l'informatique par l'ensemble des vétérinaires peut aussi poser problème.

Enfin, l'utilisation d'autres méthodes de recueil des données peut être évoquée comme l'appel téléphonique ou l'envoi de courrier. Cependant, 452 vétérinaires ont été contactés et six relances ont été nécessaires pour l'obtention des 55 questionnaires, ce qui aurait rendu ces deux dernières méthodes laborieuses, très chronophages et plus coûteuses que celle utilisée présentement.

#### 1.2.1.b. La diffusion

Comme cité précédemment, 71 des vétérinaires qui n'ont pas participé à l'enquête ont tout de même répondu au mail. En effet, 51,6 % (65) des vétérinaires ont expliqué qu'ils ne correspondaient pas à la cible de l'enquête (pas praticien en petits ruminants) et 4,8 % (6 vétérinaires) ont justifié leur non participation par un manque de temps ou d'intérêt pour l'étude. Ce manque d'intérêt pour l'enquête était souvent exprimé par des vétérinaires qui possèdent des petits ruminants dans leur clientèle mais en très faible proportion et dans la majorité des cas il s'agit de brebis ou de chèvres « de compagnie » élevées par des particuliers et qui ne suscitent pas d'attentes particulières en matière de reproduction. Il n'est pas possible de faire une comparaison avec les taux de participation des enquêtes 1 et 2 puisque les personnes interrogées n'étaient pas les mêmes (laboratoires d'analyse pour les deux premières et vétérinaires pour la troisième enquête).

De plus, cinq des 452 mails envoyés n'ont jamais été reçus puisque les adresses mails issues de l'annuaire *Roy®2013* étaient erronées.

#### 1.2.1.c. Temps nécessaire pour compléter le questionnaire

Le temps de participation à l'enquête n'a pas été évalué. Cependant, d'après le nombre de questions et leur forme, il semblerait qu'il soit plus rapide à renseigner que ceux des enquêtes 1 et 2. Tous les vétérinaires devaient répondre au même nombre de questions c'est à dire 23. Par ailleurs, 29 vétérinaires n'ont pas répondu à l'intégralité des questions. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le questionnaire était trop long mais ce sont souvent les mêmes questions qui ne sont pas renseignées donc la non-participation de certains peut alors plutôt être due au contenu de la question ou à la recherche nécessaire pour la compléter.

### ***1.2.2. À propos des questions du formulaire***

D'après les retours des vétérinaires, les questions du formulaire semblaient satisfaire la majorité des sondés. Cependant, trois vétérinaires qui ont participé à l'étude ont apporté de nombreux compléments et ont émis des critiques sur la formulation des questions. En effet, dans la question 5, il est écrit « Existe-t'il un protocole d'avortement ? » or il est vrai que l'objectif de la question était de savoir si les vétérinaires disposaient d'un protocole pour la réalisation d'un diagnostic différentiel en cas d'avortement et non pour faire avorter les animaux. Aucun vétérinaire n'a fait l'amalgame mais ce manque de précision dans la question a été soulevé par l'un des sondés. De même, trois vétérinaires ont émis des critiques sur les questions 21, 22 et 23 du questionnaire en remarquant que les propositions de réponse ne correspondaient pas aux questions. Cela s'explique

par le fait que lors d'une relance, un mauvais exemplaire de questionnaire a été envoyé par erreur. Il s'agissait d'une ébauche de questionnaire et les dernières questions n'étaient en effet pas bien posées. Cependant, les trois vétérinaires ayant participé à l'enquête avec ce questionnaire ont tout de même pu être pris en compte dans l'enquête puisqu'ils ont répondu aux questions 21, 22 et 23 et se sont exprimés aussi sur les « mauvais » items proposés. Il est à noter que lors d'une enquête, le but est de fédérer un maximum de personnes et s'adapter à l'ensemble de la population interrogée ce qui peut gêner certains sondés qui ne retrouvent pas forcément leurs sujets de préoccupation dans le questionnaire.

Par ailleurs, comme cité précédemment, 29 vétérinaires n'ont pas rendu un questionnaire complet. Pour les questions les moins renseignées, on note un taux d'abstention de 11 à 38 %. Il s'avère que les questions les moins complétées étaient les questions 4, 6 et 8 avec respectivement 15, 21 et 12 non exprimés sur les 55 sondés. Ces non réponses peuvent s'expliquer par le fait que les questions ne présentaient pas d'intérêt aux yeux des vétérinaires (exemple de la question 4 où certains vétérinaires ont expliqué qu'il était difficile « d'obliger » l'éleveur à déclarer des avortements) ou qu'il ne connaissaient pas les réponses (c'est ce qui a souvent été exprimé pour les questions 6 et 8).

Enfin, le formulaire avait pour but de faire un état des lieux et de faire échos aux enquêtes 1 et 2 citées précédemment. Il aurait donc été plus opportun de poser des questions précises sur les analyses demandées par les vétérinaires et cela pour chacun des agents pathogènes recherchés. Cependant, il est à noter que l'investissement des vétérinaires pour répondre aux questions 17 et 18 était très variable (certains vétérinaires ont classé 5 agents pathogènes majeurs alors que d'autres n'en ont cité qu'un) et l'on peut penser que des questions aussi précises n'auraient été que partiellement traitées.

### **1.3. Résultats de l'enquête**

#### ***1.3.1. Présentation des résultats***

Dans un souci de confidentialité, les résultats ont été traités en regroupant toutes les réponses et non par vétérinaire. Cela permettait par ailleurs de comparer avec les enquêtes 1 et 2 qui elles aussi avaient traité les réponses globalement.

De même, les vétérinaires qui ont participé à l'enquête étant au nombre de 55 et issus de 33 départements différents, une description des résultats par vétérinaire aurait rendu les analyses de chaque réponse du formulaire trop lourdes.

### **1.3.2. À propos de la qualité des réponses obtenues**

Malgré une forte implication des vétérinaires dans cette enquête, il est important de souligner que 52,7 % des sondés n'a pas complété l'ensemble du questionnaire. Cependant, l'enquête a globalement été très bien accueillie et 20 % des vétérinaires qui ont participé ont souhaité recevoir le travail de synthèse effectué sur ce questionnaire.

Toutefois, concernant la qualité des réponses, il est important de préciser que cette enquête traite des avortements ovins ET caprins. Cependant, seuls trois vétérinaires ont évoqué les caprins dans leurs questionnaires. Il semble donc que ce travail relève plus d'un état des lieux de la gestion des avortements dans les élevages ovins à moins que les vétérinaires qui n'ont pas donné de précision traitent de la même façon un avortement ovin et caprin et qu'ils ne fassent pas de différences lors du choix des agents pathogènes à rechercher en première intention.

De plus, trois vétérinaires ont répondu aux questions tout en précisant que leur attitude face à des avortements chez les petits ruminants était « calquée » sur celle qu'ils adoptent avec les bovins. Ceci fait ainsi écho à ce qui a été mis en évidence en première partie, c'est à dire que les déclarations d'avortements chez les petits ruminants sont encore rares et ne sont pas encore un réflexe pour les vétérinaires à l'inverse de ce qui se passe chez les bovins.

## **2. Mise en perspective des résultats de l'enquête 3 avec les enquêtes 1 et 2**

Ce travail avait pour but d'établir un état des lieux en matière de gestion des avortements chez les petits ruminants. Comme cela a été évoqué en première partie, les avortements sont encore très rarement déclarés chez les petits ruminants, ils ne présentent pas une source de préoccupation majeure pour les éleveurs et les vétérinaires tant qu'ils sont ponctuels. Cependant, ces dernières années, on observe une prise de conscience et une convergence d'un ensemble d'actions pilotées soit par la DGAI, soit par les professionnels ou les organismes associés (scientifiques, GDS France, la SNGTV, l'Adilva, les LNR, l'Anses, l'Institut de l'Élevage, Races de France, les GDS, les GTV, les LVD, etc), et qui trouvent aujourd'hui un prolongement dans les travaux de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale : parution d'un Hors série spécial Avortements chez les ruminants en 2013 dans le Bulletin des GTV, travail de l'Acersa (Bronner *et al.*, 2013 a) et des GDS départementaux ou l'UMT Petits ruminants (De Cremoux *et al.*, 2013 b ; De Cremoux, Pouget et Lacz, 2014 ).

### **2.1. Déclaration des avortements chez les petits ruminants**

D'après l'enquête 3, environ 91 % des vétérinaires estiment que les éleveurs déclarent un avortement ou une série d'avortements ponctuels (série d'avortements espacés dans le temps) dans moins de 50 % des cas. Ils sont environ 62 % à déclarer la même chose pour des avortements groupés. De même, dans l'enquête 2, les LVD déclarent réaliser 882 analyses sur des prélèvements ovins et 976 analyses sur des prélèvements caprins pour la recherche de la fièvre Q. Or, d'après

l'Agreste (2014), le cheptel français est formé de 4 849 338 brebis et 885 559 chèvres ce qui donnerait, si l'on se basait sur les seules analyses fièvre Q, un taux d'avortement de 0,02 % chez les ovins et de 0,11 % chez les caprins. Ces taux étant très faible et vraisemblablement très loin de la réalité du terrain, ils confirment que les avortements ne sont que trop rarement déclarés chez les petits ruminants.

Un vétérinaire a évoqué la transhumance et le fait que les éleveurs laissent pâturer leurs bêtes et qu'ils ne voient pas toujours les avortements puisque les avortons peuvent être rapidement dévorés par les rapaces dans certaines régions de France (JORF, Arrêté du 28 février 2008) mais cet argument ne peut pas être retenu pour les élevages hors sol ou qui ne transhument pas. Par ailleurs, comme expliqué lors de l'étude des résultats, les éleveurs ne déclarent pas d'avortements tant que ceux ci sont sporadiques et n'entraînent pas de pertes économiques majeures à leurs yeux. De plus, le peur de sanction ou du regard du voisinage est aussi un facteur prépondérant selon les praticiens. Ceci fait écho au travail de Bronner *et al.* (2013 b) sur les facteurs influençant la déclaration des avortements chez les bovins par les éleveurs et les vétérinaires.

De plus, d'après les résultats obtenus pour la question 3 de l'enquête 3 (*Pour vous quel est le frein à la déclaration d'avortement ovin/caprin ?*), pour 81 % des vétérinaires, la brucellose n'est pas un sujet de préoccupation pour les éleveurs ce qui minimise les déclarations d'avortement pourtant obligatoires. De même 62,5 % des vétérinaires font référence à l'ignorance des éleveurs d'une aide de l'Etat au moins en ce qui concerne les analyses pour la recherche de la Brucellose et en partie pour la recherche de l'agent de fièvre Q (Maaf, 2011 b ; Touratier, De Cremoux et Bronner, 2012). Enfin, pour 25 % des vétérinaires, les protocoles de déclaration d'avortement pour la mise en place d'un diagnostic différentiel est un procédé fastidieux et trop administratif (Venereau, Champion et Passerat de la Chapelle, (2010-2011) ; JORF, Arrêté du 10 octobre 2013).

Enfin, l'un des freins majeurs à la déclaration d'avortement est le coût des analyses. Cependant, d'après Touratier, De Cremoux et Bronner (2012), 98 % des départements qui développent une action face aux avortements chez les petits ruminants proposent un appui financier correspondant à une aide aux analyses. Ainsi, le pourcentage du coût des analyses pris en charge est de 85 % selon les 9 départements qui ont répondu à l'enquête. Ce budget global d'aide est d'environ 1 500 € pour les ovins et 1 000 € chez les caprins (en comparaison, moyenne de 24 000 € par département pour les bovins). Toujours d'après l'étude, les GDS sont les principaux contributeurs financiers dans 85 % des départements interrogés ce qui fait écho aux réponses obtenues à la question 6 de l'enquête 3. Les Conseils généraux participent pour 50 % et les Conseils régionaux pour 25 % des frais selon les départements interrogés (Maaf, 2011 b ; Touratier, De Cremoux et Bronner, 2012).

## **2.2. Prélèvement, acheminement des échantillons pour la recherche d'agents abortifs**

### **2.2.1. Les prélèvements**

D'après les réponses fournies par les laboratoires lors des enquêtes 1 et 2, il semble que la prise de sang est le prélèvement de choix pour les vétérinaires lorsqu'ils sont face à un avortement. De même, d'après les praticiens, dans près de 44 % des cas, seul l'animal avorté est prélevé mais ce n'est pas la méthode préconisée (Nouvel *et al.*, 2013).

Par ailleurs, les enquêtes auprès des laboratoires ont permis de mettre en évidence que les prélèvements tels que les avortons entiers ou le placenta étaient très souvent souillés à l'inverse des organes d'avorton ou des cotylédons. Ces souillures peuvent compromettre la réalisation d'analyses dans de bonnes conditions.

Enfin, pour 90 % des praticiens, les échantillons sont analysés, que leur état de conservation soit bon ou non et qu'ils soient acheminés au laboratoire selon une procédure définie ou déposés directement par l'éleveur ou le vétérinaire. Cela n'oriente ni vers une prise de conscience et une application des vétérinaires sur le terrain ni vers une amélioration du taux d'élucidation dans la recherche d'agents abortifs.

Nouvel *et al.* (2013) ont décrit les procédures de prélèvement à réaliser en cas d'avortements chez les petits ruminants. Ils suggèrent d'envoyer prioritairement l'avorton entier au laboratoire afin qu'il soit prélevé sur place car cela évite la présence de souillures sur les échantillons.

Par ailleurs, le vétérinaire doit privilégier le prélèvement de cotylédons directement dans le vagin ou in utéro afin de garantir d'avoir des échantillons propres. Si le praticien ne dispose que du placenta, il devra prélever des houppes cotylédonaires en sélectionnant celles comportant des lésions caractéristiques (type nécrose). Si un échantillon de placenta n'est pas envisageable, le praticien devra se tourner vers un prélèvement de mucus vaginal à l'aide d'un écouvillon qui est d'ailleurs préconisé pour la recherche de Brucellose et dans le cadre du protocole fièvre Q mais cela ne suffit pas car ce prélèvement semble être inadapté pour la recherche de l'agent de la toxoplasmose. Toute contamination environnementale doit être évitée car elle pourrait fausser les résultats notamment dans la recherche de *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* (Lars et Buret, 2013 ; Nouvel *et al.*, 2013).

De plus, le liquide stomacal et les organes abdominaux de l'avorton seront prélevés ainsi que l'encéphale entier ou du liquide encéphalique pour la recherche de toxoplasmes. Ces prélèvements devront préférentiellement être réalisés au laboratoire pour éviter toute contamination et même si l'encéphale entier est plus intéressant pour le laboratoire (avec notamment le tractus optique et la partie rostrale du pont), des prélèvements par ponction peuvent être utilisés (Lars, 2013 ; Nouvel *et al.*, 2013).

### **2.2.2. Emballage et acheminement des prélèvements**

L'envoi postal semble être le mode d'acheminement le moins adapté puisque selon les laboratoires, il est plus souvent à l'origine de la réception de prélèvements en cours de putréfaction. Cependant, les vétérinaires semblent relativement sensibles à cela puisque malgré une mise au froid tardive ou absente pour certains d'entre eux (dans moins de 25 % des cas pour 93,5 % des laboratoires interrogés lors de l'enquête 1), la majorité a recours à un transporteur ou fait déposer les prélèvements directement au laboratoire par l'éleveur lorsqu'il s'agit d'un avorton par exemple. En effet, les règles de conservation (De Cremoux, Corbière et Nicollet, 2014) sont mieux respectées lorsqu'il s'agit de prélèvements autres que les échantillons de sang comme en témoignent les résultats de la question 14 (*A quelle température stockez-vous les prélèvements avant de les envoyer ?*) de l'enquête 3.

L'emballage et le transport sont aussi capitaux pour la réalisation d'analyses dans de bonnes conditions. C'est ce qu'a décrit Nicollet (2013). Dans l'idéal, les prélèvements devront être envoyés dans les 48 heures qui suivent l'avortement (De Cremoux, Corbière et Nicollet, 2014). Si cela n'est pas le cas, le praticien doit impérativement indiquer le délai sur la demande d'analyses car cela peut conditionner les analyses réalisées. En effet, si les prélèvements ont été effectués depuis plus de 48 heures, il se peut que la bactériologie ne soit plus une méthode appropriée et le laboratoire s'orientera alors vers d'autres techniques analytiques.

Toujours d'après Nicollet (2013), les échantillons doivent être conservés et acheminés à +4 - +8°C et la congélation/décongélation est déconseillée pour les analyses bactériologiques ou les PCR pour la détection de virus.

De plus, les échantillons abortifs appartiennent à la classe 6.2 des Matières dangereuse selon les dispositions de l'ADR. On distingue alors trois catégories et les échantillons réalisés dans le cadre d'avortements appartiennent à la catégorie B. Ils sont donc soumis à l'instruction d'emballage P650 de l'ADR qui consiste en un triple emballage et les mentions « UN 3373 » et « Matière biologique, catégorie B » doivent apparaître sur le colis (UNECE, 2007).

### **2.3. Agents abortifs recherchés et méthodes utilisées**

Il semble que pour l'ensemble des vétérinaires, les cinq agents abortifs décrits comme majeurs à savoir *Coxiella burnetii* (Rodolakis, 2009), *Salmonella Abortusovis* (Pardon *et al.*, 1988), *Toxoplasma gondii* (Innes *et al.*, 2009 ; Menzies, 2011 ; Moreno *et al.*, 2012), *Chlamydomphila abortus* (Stuen et Longbottom, 2011) et le virus de la Border disease (Givens et Marley, 2008 ; Yoo, 2010 ; Ali *et al.*, 2011), sont les plus rencontrés sur le terrain. En effet, même si d'autres pathogènes comme *Listeria*, *Neospora*, *Campylobacter* ou encore Schmallenberg ont été cités, cela n'était que ponctuel et les praticiens ont souvent recours à ces recherches lorsque les premières analyses se sont révélées infructueuses.

Par ailleurs, d'après l'enquête 3, près de 48 % des vétérinaires font appel à un autre laboratoire que leur département d'exercice. Dans 43,5 % des cas, cela est dû au fait que tous les laboratoires départementaux ne réalisent pas les mêmes analyses et que certains agents abortifs ne peuvent pas être recherchés dans les laboratoires d'origine des vétérinaires. Il existe en effet un regroupement de spécialisation des laboratoires sur un ensemble de départements et ces derniers transfèrent les prélèvements qu'ils reçoivent lorsqu'ils ne réalisent pas les analyses demandées (Agnel et Gauthier, 2013).

Par ailleurs, pour bon nombre de vétérinaires qui ont fait ce choix, cela s'explique par la disparité entre les départements avec des départements jugés plus adaptés, plus précis, plus rapides, plus spécialisés ou moins chers (différence de prix entre laboratoire mise en évidence dans l'Enquête 2). Cela fait écho à la disparité qui réside dans les pratiques des différents laboratoires (Agnel et Gauthier, 2013) et dans le niveau des subventions accordées par les Conseils généraux et régionaux (Maaf, 2011 b ; Touratier, De Cremoux et Bronner, 2012).

De plus, si certains vétérinaires font appel à un laboratoire d'analyse voisin, c'est uniquement parce que l'éleveur qui a subi un épisode abortif vit dans le département voisin ou qu'il en fait la demande.

Cependant, comme le soulignent les laboratoires et les vétérinaires, une harmonisation dans les analyses tout comme les prélèvements est vivement souhaitée sur le terrain.

En ce qui concerne les analyses, on note un recours aux analyses directes ou indirectes selon les agents recherchés. Par exemple, la recherche de salmonelles semble plutôt effectuée avec des analyses directes alors que pour les toxoplasmes, les analyses indirectes sont encore largement utilisées. Ainsi, les techniques de diagnostic direct et indirect sont souvent utilisées en association dans les laboratoires.

De plus, comme le soulignent Pépin, Lambert et Bachy (2013) dans une synthèse sur les méthodes d'analyse parue dans le bulletin des GTV, les techniques analytiques sont de plus en plus performantes et rapides mais leur efficacité dépend en grande partie des conditions dans lesquelles elles sont réalisées. En effet, les échantillons sont encore trop souvent mal conservés (n'arrivent pas sous couvert de froid ou prélèvement trop tardif par rapport à l'avortement), souillés ou inadaptés pour les analyses demandées. Une collaboration optimale en matière de prélèvements, modalités d'envoi et demande d'analyse entre praticiens et laboratoires devrait permettre d'améliorer les choses.

Enfin, dans le Hors série consacré aux avortements du Bulletin des GTV 2013, De Cremoux et al. (2013) présentent des démarches diagnostiques pour les principaux agents abortifs décrits jusqu'ici (cf Annexe 4).

#### **2.4. Attentes et perspectives**

D'après les laboratoires et les vétérinaires, le but de chacun est d'arriver à une harmonisation en matière de prélèvement, de diagnostic différentiel, d'analyse et d'interprétation des résultats. La variabilité encore existante à travers les différents départements français est à

l'origine d'une méfiance des éleveurs et des vétérinaires vis à vis de l'efficacité des recherches effectuées en matière d'avortement chez les petits ruminants. De plus, comme le précise Duquesnel (2012), les résultats d'un laboratoire ou d'un échantillon isolé ne permettent pas à l'heure actuelle de faire des conclusions précises sur l'épidémiologie ou l'incidence de tel ou tel agent abortif étant donné la variabilité des méthodes qui existent encore aujourd'hui.

Cependant, il est évident qu'une prise de conscience a poussé les différents intervenants à élaborer des protocoles afin d'arriver à cet objectif d'harmonisation. En effet, une étude a été présentée par Rousset et De Cremoux (2013) concernant un protocole d'analyse harmonisé pour la recherche de la fièvre Q avec une approche axée sur les laboratoires (définition des modalités de traitement des échantillons, d'extraction pour les PCR, contrôles des lots de kits, évaluation de la qualité (sensibilité, spécificité, biais)) ainsi d'un travail mené par De Cremoux *et al.* (2013 c) sur une démarche harmonisée du diagnostic différentiel lors d'avortements chez les petits ruminants (démarche diagnostique globale qui fournit des arbres décisionnels sans évaluer les pratiques de laboratoire) démontrent cette volonté d'uniformisation.

Récemment, une étude rapportée par De Cremoux *et al.* (2014) a fait état des premiers résultats obtenus dans un département pilote en matière de fièvre Q, l'Aveyron. Il semble que l'existence d'un protocole fixe et d'une démarche harmonisée soit une source de motivation et de prise de conscience pour les éleveurs et les vétérinaires. Si les vétérinaires aveyronnais se sont beaucoup impliqués dans ce travail, cela ne semble pas forcément avoir été le cas de l'ensemble des autres départements intégrés dans l'étude. Par ailleurs, à l'issue de cette étude, les résultats sont encourageants notamment avec un taux d'élucidation estimé à 60 %. Malgré cela, le protocole de diagnostic proposé pour la recherche de la toxoplasmose semble poser des questions et un travail est déjà initié afin de faire évoluer la démarche diagnostique.

Cependant, comme le suggère l'étude, une démarche harmonisée ne suffit pas à régler le problème de sous-déclaration et de remise en cause du protocole d'avortement : le respect des règles en matière de prélèvement, conservation, acheminement et qualité des commémoratifs, participe de façon prépondérante à la réussite d'un tel travail.

De plus, il semble, au vu de l'étude, que la vaccination du troupeau ne doit pas être un critère d'exclusion de l'agent abortif contre lequel une vaccination a été réalisée puisque la protection n'est jamais totale et les conditions de réalisation du vaccin et le respect des protocoles vaccinaux peuvent avoir un impact important (Leterrier, 2010 ; Menzies, 2012).

Enfin, l'interprétation des résultats fournis par le laboratoire peut être un problème pour les praticiens (Leterrier, 2010). Il conviendrait ainsi d'uniformiser le rendu des résultats au sein des laboratoires départementaux et de former les vétérinaires pour éviter des erreurs diagnostiques.

## CONCLUSION

Depuis toujours, les avortements représentent une perte de production et une perte économique importante dans les élevages de petits ruminants français. Cependant, le prix des produits (agneaux et chevreaux) étant dérisoire, leur perte n'entraîne pas de prise de conscience majeure de la part des éleveurs tant que les avortements ne sont pas massifs. Cela s'explique par le prix des analyses et le faible taux d'élucidation encore observé pour certains agents.

D'après la réglementation basée sur une étude de prévalence, de risque zoonotique et sécurité sanitaire, cinq agents abortifs considérés comme « prioritaires » ont été définis : *Chlamydomphila abortus*, *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella Abortusovis* et le virus de la Border disease. Leur prévalence varie d'une région à l'autre et d'un élevage à l'autre. De plus, outre l'avortement, ils n'engendrent pas de signes cliniques pathognomoniques ce qui rend leur mise en évidence très délicate.

De plus, les méthodes d'analyses et les matrices choisies par les laboratoires varient d'un département à l'autre ce qui rend plus aléatoire le choix des analyses pour la recherche de pathogènes abortifs. Par ailleurs, tous les vétérinaires praticiens n'effectuent pas les mêmes prélèvements ce qui crée une variabilité dans les analyses imposées par la nature des prélèvements reçus.

Par ailleurs, ces dernières années, on a pu observer une prise de conscience de la part des différents partenaires sollicités lors d'avortements chez les petits ruminants. Tous travaillent vers une harmonisation des protocoles de prélèvements, de diagnostic différentiel et d'interprétation des résultats afin d'améliorer les taux d'identification des différents agents abortifs et ainsi redonner confiance aux éleveurs en ce qui concerne l'intérêt de la déclaration d'avortement, de la demande d'analyses et ce qu'elles entraînent.

Cependant, pour arriver à une uniformisation des pratiques au niveau national, tous les intervenants doivent faire preuve d'un réel investissement. Les éleveurs devront déclarer les avortements plus systématiquement et le plus tôt possible, les prélèvements des vétérinaires devront être de qualité et correspondre aux analyses demandées et attendues pour la recherche des pathogènes et les laboratoires devront harmoniser leurs méthodes et le rendu des résultats.



## BIBLIOGRAPHIE

ACERSA. (2007). *Proposition de plan de maitrise de la fièvre Q dans les élevages cliniquement atteints*. [en ligne]. [[http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Plan\\_de\\_maitrise\\_FQ.pdf](http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Plan_de_maitrise_FQ.pdf).] Consulté le 20/06/13.

AGNEL R, GAUTHIER D. (2013). *Laboratoire départemental d'analyses* [6- Partenariat]. [en ligne]. [<http://www.wikiterritorial.cnfpt.fr/xwiki/wiki/econnaissances/view/Notions-Cles/Laboratoiredepartementaldanalyses>.] Consulté le 05/07/14.

AGRESTE. (2014). *Statistique agricole annuelle*. [en ligne]. [<http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/saa2014T15bspca.pdf>.] Consulté le 23/06/14.

ALI H, ALI AA, ATTA MS, CEPICA A. (2012). Common, emerging, vector-borne and infrequent abortogenic virus infections of cattle. *Transbound Emerg Dis*. **59**, 11-25.

ALSALEH A, PELLERIN J-L, RODOLAKIS A, LARRAT M, COCHONNEAU D, BRUYAS J-F, *et al.* (2011). Detection of *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, in oviducts and uterine flushing media and in genital tract tissues of the non pregnant goat. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **34**, 355-360.

ANONYME. (2008). *Arrêté du 28 février 2008 relatif aux modalités de délivrance de l'agrément sanitaire et de l'autorisation des établissements visés par le règlement (CE) n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine*. *JORF*. [en ligne]. [<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000018217605>.] Consulté le 04/07/14.

ANONYME. (2012). *Arrêté du 13 août 2012 relatif à la constitution d'un dispositif pilote de surveillance de la fièvre Q dans des départements en élevages bovins, ovins et caprins*. *JORF*. [en ligne]. [[http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do;jsessionid=FBCCEBACC68B2A1F12B0D68B5B2CC995.tpdjo08v\\_3?cidTexte=JORFTEXT000026296466&dateTexte=&oldAction=rechJO&categorieLien=id&idJO=JORFCONT000026296121](http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do;jsessionid=FBCCEBACC68B2A1F12B0D68B5B2CC995.tpdjo08v_3?cidTexte=JORFTEXT000026296466&dateTexte=&oldAction=rechJO&categorieLien=id&idJO=JORFCONT000026296121)]. Consulté le 26/07/14.

ANONYME. (2013). *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*. *JORF*. [en ligne]. [<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028106930>]. Consulté le 04/07/14.

ANONYME. (2013). *Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales, Texte n°112*. *JORF*. [en ligne]. [<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027831750&dateTexte=&oldAction=dernierJO&categorieLien=id>]. Consulté le 23/06/14.

ANSES. (2010). AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une auto-saisine concernant les risques pour l'homme associés à l'ingestion de lait cru ou de produits transformés à base de lait cru issus de troupeaux atteints de fièvre Q avec signes cliniques et à l'intérêt de la pasteurisation du lait issu de ces troupeaux. Saisine n°2010-SA-0043.

ARQUIÉ M. (2006). Investigation des causes abortives dans trois élevages ovins laitiers du bassin de Roquefort. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 121 p.

ARRICAU BOUVERY N, SOURIAU A, LECHOPIER P, RODOLAKIS A. (2003). Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes. *Vet. Res.*, **34**, 423-433.

ARRICAU-BOUVERY N, SOURIAU A, BODIER C, DUFOUR P, ROUSSET E, RODOLAKIS A. Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine*. 2005, **23**, 4392-4402.

BAREILLE S, BLAIN S, LETERRIER B. (2013). Mesures de maîtrise dans les élevages de petits ruminants confrontés à des avortements. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013 – Avortements Tome 1, 117-129.

BELLOY L, DECRAUSAZ L, BOUJON P, HÄCHLER H, WALDVOGEL AS. (2009). Diagnosis by culture and PCR of *Salmonella Abortusovis* infection under clinical conditions in aborting sheep in Switzerland. *Vet. Microbiol.*, **138**, 373-377.

BLAIN S. (2006). Avortements dus à *Coxiella burnetii* en élevage caprin : Evaluation de l'efficacité de la tétracycline. *Bulletin des GTV.*, 47-49.

BROADDUS CC, LAMM CG, KAPIL S, DAWSON L, HOLYOAK GR. (2009). Bovine viral diarrhoea virus abortion in goats housed with persistently infected cattle. *Vet. Pathol.*, **46**, 45-53.

BRONNER A, RAUTUREAU S, PERRIN J-B, TOURATIER A, GACHE K, LARS F, *et al.* (2013 a). Actions de la Plateforme ESA pour la surveillance des maladies abortives en élevage de ruminants en France. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013 – Avortements Tome 1, 11-14.

BRONNER A, HENAUX V, FORTANE N, CALAVAS D. (2013 b) Identification des facteurs influençant la déclaration des avortements chez les bovins par les éleveurs et les vétérinaires. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **57**, 5-8.

BUENDÍA AJ, CUELLO F, DEL RIO L, GALLEGO MC, CARO MR, SALINAS J. (2001). Field evaluation of a new commercially available ELISA based on a recombinant antigen for diagnosing *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) infection. *Vet. Microbiol.*, **78**, 229-239.

Bureau de Maitrise d'Ouvrage des Systèmes d'Information de l'Alimentation (BMOSIA). (2014). Données confidentielles.

BUXTON D, MALEY SW, WRIGHT SE, RODGER S, BARTLEY P, INNES EA. (2007). *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. *Vet. Parasitol.*, **149**, 25-28.

CENCI-GOGA BT, CIAMPELLI A, SECHI P, VERONESI F, MORETTA I, CAMBIOTTI V, *et al.* (2013). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep in Grosseto district, Tuscany, Italy. *BMC Vet. Res.*, **9**, 25.

COULIBALY E, HEINIS V, CAMPOS C, OZON C, BOURDOISEAU G, HAAS P, MARTY P. (2004). Enquête sur es pratiques diagnostiques et thérapeutiques de la Leishmaniose chez les vétérinaires praticiens en 2000. *Epidémiol. Et santé anim.*, **45**, 33-44.

COURCOUL A, MONOD H, NIELEN M, KLINKENBERG D, HOGERWERF L, BEAUDEAU F, *et al.* (2011). Modelling the effect of heterogeneity of shedding on the within herd *Coxiella burnetii* spread and identification of key parameters by sensitivity analysis. *J. Theor. Biol.*, **284**, 130–141.

DE CREMOUX R, CORBIÈRE F, BERTHELOT X. (2013 a). *Gestion sanitaire globale - Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants*. [en ligne]. [[http://idele.fr/fileadmin/medias/Images/Axe1-fiche\\_avortements.pdf](http://idele.fr/fileadmin/medias/Images/Axe1-fiche_avortements.pdf).] Consulté le 20/06/13.

DE CREMOUX R, CORBIÈRE F, NICOLLET P. (2014). Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants - Emballage et transport des échantillons prélevés lors d'avortements. Institut de l'Élevage Collection l'Essentiel. [en ligne]. [<http://idele.fr/recherche/publication/idelesolr/recommends/emballage-et-transport-des-echantillons-preleves-lors-davortements.html>]. Consulté le 26/07/14.

DE CREMOUX R, CORBIÈRE F, NOUVEL X, BERTHELOT X, CHAMPION JL, MONDOLY P, NOUZIÈRES S, POUGET C, AUDEVAL C, AUTEF P, BLISSON G, BOUCHER C, DION F, DUQUESNE V, GAUTHIER D, JAY M, LACZ C, LAROUCAU K, LAUFRAIS N, LEPETITCOLIN E, NICOLLET P, NOVELLA C, TOURATIER A, VIALARD J. (2013 b). Elaboration d'une démarche harmonisée de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants., *In : Journées Nationales GTV*. Nantes, 15-17 Mai 2013, SNGTV, Paris, 249-262.

DE CREMOUX R, CORBIÈRE F, NOUVEL X, CHAMPION J-L, MONDOLY P, NOUZIÈRES S, *et al.* (2013 c). Démarche harmonisée de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants. *Bulletin des GTV.*, Hors série – Avortements Tome 1, 93–104.

DE CREMOUX R, POUGET C, LACZ C. (2014). Mise en place d'une démarche de diagnostic différentiel des maladies abortives de première intention chez les petits ruminants : premiers éléments d'évaluation en Aveyron., *In : Journées Nationales GTV*. Reims, 21-23 Mai 2014, SNGTV, Paris, 191–202.

DE CREMOUX R, ROUSSET E, TOURATIER A, AUDUSSEAU G, NICOLLET P, RIBAUD D, *et al.* (2012). *Coxiella burnetii* vaginal shedding and antibody responses in dairy goat herds in a context of clinical Q fever outbreaks. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **64**, 120–122.

DE MORAES EPBX, BATISTA AM, FARIA EB, FREIRE RL, FREITAS AC, SILVA MAR, *et al.* (2010). Experimental infection by *Toxoplasma gondii* using contaminated semen containing different doses of tachyzoites in sheep. *Vet. Parasitol.*, **170**, 318–322.

DIJKSTRA F, VAN DER HOEK W, WIJERS N, SCHIMMER B, RIETVELD A, WIJKMANS CJ, VELLEMA P, SCHNEEBERGER P-M. (2012). The 2007–2010 Q fever epidemic in The Netherlands: characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **64**, 3-12.

DONN A, JONES GE, RUIU A, LADU M, MACHELL J, STANCANELLI A. (1997). Serological diagnosis of chlamydial abortion in sheep and goats: comparison of the complement fixation test and an enzyme-linked immunosorbent assay employing solubilised proteins as antigen. *Vet. Microbiol.*, **59**, 27–36.

DUBEY JP. (2009). Toxoplasmosis in sheep--the last 20 years. *Vet. Parasitol.* **163**, 1- 14.

DUBEY JP, HILL DE. (2008). Toxoplasmose, in: Kahn, C.M., Line, S. (Éd.), *Le Manuel Vétérinaire Merck.*, MERCK and CO., INC. WHITEHOUSE STATION, N.J., U.S.A., p. 547–549.

DUPONT HT, THIRION X, RAOULT D. (1994). Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol.*, **1**, 189-196.

DUQUESNEL R. (2012). Avortements chez les petits ruminants. Synthèse des analyses sérologiques et de PCR temps réel réalisées de 2006 à 2011 par le Laboratoire Départemental d'Analyses du Tarn., In : Journées Nationales GTV. Nantes, 23-25 Mai 2012, SNGTV, Paris, 267–273.

FEDIAEVSKY A, GARIN-BASTUJI B, MOUTOU F. (2009). Bilan de la surveillance de la brucellose ovine et caprine en 2009 : la surveillance n'est pas toujours adaptée dans un contexte épidémiologique favorable. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation.* **40**. 28–31.

FODSA. (2012). Les analyses Border Disease dans le lait de tank. [en ligne]. [<http://agriculture.gouv.fr/Bulletin-epidemiologique-no-40>]. Consulté le 26/07/14.

GARCÍA-PÉREZ AL, MINGUIJÓN E, BARANDIKA JF, ADURIZ G, POVEDANO I, JUSTE RA, *et al.* (2009). Detection of Border disease virus in fetuses, stillbirths, and newborn lambs from natural and experimental infections. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **21**, 331–337.

GIVENS MD, MARLEY MSD. (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology.* **70**, 270-285.

GLOR SB, EDELHOFER R, GRIMM F, DEPLAZES P, BASSO W. (2013). Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in serum, plasma and meat juice from experimentally and naturally infected sheep. *Parasit Vectors.*, **6**, 85.

GDS RHÔNES-ALPES, GTV RHÔNES-ALPES, VETAGRO SUP. (2010). *Qu'est-ce qu'un avortement ? Définition médicale et réglementaire.* [en ligne]. GDS Rhône-Alpes, [[http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/e9c718688b57374cc1257223007ffc79/335b51b213c9c849c1256c77006d9f4d/\\$FILE/AVO%20Fiche%20d%C3%A9finition.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/e9c718688b57374cc1257223007ffc79/335b51b213c9c849c1256c77006d9f4d/$FILE/AVO%20Fiche%20d%C3%A9finition.pdf)]. Consulté le 20/07/14

GDS RHÔNES-ALPES, GTV RHÔNES-ALPES, VETAGRO SUP. (2014). *Maîtriser les avortements des vaches, brebis et chèvres.* [en ligne]. GDS Rhône-Alpes, [<http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/e9c718688b57374cc1257223007ffc79/335b51b213c9c849c>

GUÉRIN D. (2004). *Les avortements ovins - Que faire pour améliorer leur contrôle*. [en ligne]. GDS Creuse, [[http://cluster006.ovh.net/~gdscreus/wp-content/uploads/2012/01/08\\_8-Avortements-ovins.pdf](http://cluster006.ovh.net/~gdscreus/wp-content/uploads/2012/01/08_8-Avortements-ovins.pdf)]. Consulté le 23/06/14.

GUTIERREZ J, O'DONOVAN J, WILLIAMS E, PROCTOR A, BRADY C, MARQUES PX, *et al.* (2010). Detection and quantification of *Toxoplasma gondii* in ovine maternal and foetal tissues from experimentally infected pregnant ewes using real-time PCR. *Vet. Parasitol.*, **172**, 8–15.

GUTIERREZ J, WILLIAMS EJ, O'DONOVAN J, BRADY C, PROCTOR AF, MARQUES PX, *et al.* (2011). Monitoring clinical outcomes, pathological changes and shedding of *Chlamydophila abortus* following experimental challenge of periparturient ewes utilizing the natural route of infection. *Vet. Microbiol.*, **147**, 119–126.

HALOS L, THÉBAULT A, AUBERT D, THOMAS M, PERRET C, GEERS R, *et al.* (2010). An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *Int. J. Parasitol.*, **40**, 193–200.

HARS J, RAUTUREAU S, JAÏ M, GAME Y, GAUTHIER D, HERBAUX J-P, LE HORGNE J-M, MAUCCI E, PASQUIER J-J, VANISCOTTE A, MICK V, GARIN-BASTUJI B. (2013). Un foyer de brucellose chez les ongulés sauvages du massif du Bargy en Haute-Savoie. *Bulletin épidémiologique*. **60**. 2-7.

HURTADO A, SANCHEZ I, BASTIDA F, MINGUIJÓN E, JUSTE RA, GARCÍA-PÉREZ AL. (2009). Detection and quantification of pestivirus in experimentally infected pregnant ewes and their progeny. *Viol. J.*, **6**, 189.

INNES EA, BARTLEY PM, BUXTON D, KATZER F. (2009). Ovine toxoplasmosis. *Parasitology*. **136**, 1887-1894.

INSTITUT DE BIOLOGIE CLINIQUE – Université Libre de Bruxelles. (2009). Fiche analyse : Anticorps anti-Salmonella (sérodiagnostic de Widal). [En ligne]. [[http://www.ulbibr.be/repertoire%20\\_IBC/Widal\\_salmo.aspx](http://www.ulbibr.be/repertoire%20_IBC/Widal_salmo.aspx)]. (Consulté le 31/7/14).

INSTITUT DE L'ÉLEVAGE. (2000). *L'élevage bovin, ovin et caprin – lait et viande – au recensement agricole de 2000*. [en ligne]. [[http://www.inst-elevage.asso.fr/IMG/pdf\\_D\\_318.pdf](http://www.inst-elevage.asso.fr/IMG/pdf_D_318.pdf)]. Consulté le 07/07/14.

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE. (2004). *Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France*. [en ligne]. [[http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf\\_origine\\_alimentaire/inf\\_origine\\_alimentaire.pdf](http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf_origine_alimentaire/inf_origine_alimentaire.pdf)]. Consulté le 28/07/14.

JAÏ M, RAUTUREAU S, MICK V, GARIN-BASTUJI B. (2013 a). Quarante ans de lutte contre la brucellose chez les ruminants. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013– Avortements Tome 1, 29–35.

JAÏ M, RAUTUREAU S, MICK V, GARIN-BASTUJI B. (2013 b). Brucellose des ruminants : les foyers bovins de 2012 en France et en Belgique appellent à la vigilance. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013– Avortements Tome 1, 25-28.

LARS F, BURET Y. (2013). Prélèvements en vue d'analyses complémentaires lors d'avortements chez les bovins. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013– Avortements Tome 1, 38-41.

LENZKO H, MOOG U, HENNING K, LEDERBACH R, DILLER R, MENGE C, *et al.* (2011). High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. *BMC Vet. Res.*, **7**, 29.

LETERRIER B. (2010). Conduite à tenir lors d'avortement infectieux enzootique. *Le Point Vétérinaire.*, 56-61.

LIVINGSTONE M, WHEELHOUSE N, MALEY SW, LONGBOTTOM D. (2009). Molecular detection of *Chlamydophila abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing. *Vet. Microbiol.*, **135**, 134-141.

MAAF (MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT), DGAL, SERVICE DE LA PRÉVENTION DES RISQUES SANITAIRES DE LA PRODUCTION PRIMAIRE, SOUS-DIRECTION DE LA SANTÉ ET PROTECTION ANIMALES, BUREAU DE LA SANTÉ ANIMALE. (2011 a). Fièvre Q - protocole d'investigation et mesures en élevage lors de cas humains groupés. No. DGAL/SDSPA/MUS/N2011-8124.

MAAF (MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT), DGAL, SERVICE DE LA PRÉVENTION DES RISQUES SANITAIRES DE LA PRODUCTION PRIMAIRE, SOUS-DIRECTION DE LA SANTÉ ET PROTECTION ANIMALES, BUREAU DE LA SANTÉ ANIMALE. (2011 b). Mise en place d'une surveillance de la fièvre Q dans des départements pilotes. Note de service No. DGAL/SDSPA/N2011-8116.

MARHUENDA C. (2006). Etude des avortements d'origine infectieuse (Fièvre Q, Chlamydie, Toxoplasmose) chez les petits ruminants en vue d'établir un protocole diagnostique dans le département des Deux-Sèvres., Thèse Méd. Vét., Nantes, 116 p.

MARTÍN-ATANCE P, LEÓN L, CANDELA M.G. (2012). Serology as an Epidemiological Tool for *Salmonella* Abortusovis Surveillance in the Wild-Domestic Ruminants Interface, *Salmonella – A Diversified Superbug*, Kumar Y (Éd.), ISBN : 978-953-307-781-9, InTech.[en ligne]. [<http://cdn.intechweb.org/pdfs/26467.pdf>]. Consulté le 26/07/14.

MASALA G, PORCU R, DAGA C, DENTI S, CANU G, PATTA C, *et al.* (2007). Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **19**, 96-98.

MENZIES PI. (2011). Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **27**, 81-93.

MENZIES PI. (2012). Vaccination programs for reproductive disorders of small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* **130**, 162-172.

MEYER G, TIGNON M, DEPLANCHE M, ANNE S, PLEINECASSAGNE F, AUSSAVY M, CAY A-B, SCHELCHER F. (2012). Actualités sur la Border Disease (BD) en France : données épidémiologiques et premiers essais sur l'intérêt des vaccins BVD dans la prévention de la BD. In : *Journées Nationales GTV*. Nantes, 23-25 Mai 2012, SNGTV, Paris, 395-400.

- MILLION M, LEPIDI H, RAOULT D. Fièvre Q : actualités diagnostiques et thérapeutiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2009, **39**, 82-94.
- MORENO B, COLLANTES-FERNÁNDEZ E, VILLA A, NAVARRO A, REGIDOR-CERRILLO J, ORTEGA-MORA LM. (2012). Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet. Parasitol.*, **187**, 312–318.
- NAVARRO JA, GARCÍA DE LA FUENTE JN, SÁNCHEZ J, MARTÍNEZ CM, BUENDÍA AJ, GUTIÉRREZ-MARTÍN CB, *et al.* (2004). Kinetics of infection and effects on the placenta of *Chlamydophila abortus* in experimentally infected pregnant ewes. *Vet. Pathol.*, **41**, 498–505.
- NAVARRO JA, ORTEGA N, BUENDIA AJ, GALLEGO MC, MARTÍNEZ CM, CARO MR, *et al.* (2009). Diagnosis of placental pathogens in small ruminants by immunohistochemistry and PCR on paraffin-embedded samples. *Vet. Rec.*, **165**, 175–178.
- NICOLLET P. (2009). Les examens complémentaires lors d'avortements infectieux non brucelliques chez les ruminants. *Bulletin des GTV.*, **48**, 23–31.
- NICOLLET P. (2013). L'emballage et le transport des échantillons prélevés lors d'avortements. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013 – Avortements Tome 1, 48–51.
- NIETFELD JC. (2008). Avortement chez les grands animaux, *in: Kahn, C.M., Line, S. (Éd.), Le Manuel Vétérinaire Merck.*, MERCK and CO., INC. WHITEHOUSE STATION, N.J., U.S.A., p. 1101–1104.
- NOUVEL X, BERTHELOT X, BLAIN S, DE CREMOUX R. (2013). Prélèvements en vue d'analyses complémentaires lors d'avortements chez les ruminants. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013 – Avortements Tome 1, 42–47.
- ORDRE NATIONAL DES VÉTÉRINAIRES. (2013). Les statistiques de la profession pour 2013.
- PARDON P, SANCHIS R, MARLY J, LANTIER F, PÉPIN M, POPOFF M. (1988). [Ovine salmonellosis caused by *Salmonella abortus ovis*]. *Ann. Rech. Vet.* **19**, 221-235.
- PÉPIN M, LAMBERT V, BACHY V. (2013). Le diagnostic de laboratoire des infections abortives des ruminants. *Bulletin des GTV.*, **Hors série 2013 – Avortements Tome 1**, 53–62.
- REYNAL J-A. (2004). Etude sérologique de maladies abortives non règlementées chez les isards et les ovins de la réserve de chasse et de faune sauvage d'Orlu., Thèse Méd. Vét., Toulouse, 202 p.
- RODOLAKIS A. (1988). Diagnostic de la Chlamydie abortive. *Ann Rech Vét.*, **19**, 213–220.
- RODOLAKIS A, DUFOUR B. (2006). Fièvre Q : évaluation du risque pour la santé publique et outils de gestion en élevage. *Bulletin épidémiologique*. **21**, 4-6.
- RODOLAKIS A. (2009). Q Fever in dairy animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1166**, 90-93.

ROEST H-J, VAN GELDEREN B, DINKLA A, FRANGOULIDIS D, VAN ZIJDERVELD F, REBEL J, *et al.* (2012). Q fever in pregnant goats: pathogenesis and excretion of *Coxiella burnetii*. *PLoS ONE.*, **7**, e48949.

ROUSSET E, DE CREMOUX R. (2013). Fiabilité et harmonisation des méthodes de diagnostic pour la fièvre Q. *Bulletin des GTV.*, Hors série 2013 – Avortements Tome 1, 63–73.

ROUSSET E, NICOLLET P. (2010). Enquête réalisée auprès des Laboratoires Vétérinaires – Groupe de Travail Fièvre Q. In : *Rencontres Nationales Vétérinaires*, Bordeaux, SNVEL, Paris. (**Enquête 2**)

SANCHIS R, PARDON P. (1984). Infection expérimentale de la brebis avec *Salmonella abortus ovis* : influence du stade de gestation. *Ann Rech Vét.*, **15**, 97–103.

STORMOEN M, THARALDSEN J, HOPP P. (2012). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Norwegian dairy goats. *Acta Vet. Scand.*, **54**, 75.

STUEN S, LONGBOTTOM D. (2011). Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **27**, 213-233.

TOURATIER A, DE CREMOUX R, BRONNER A. (2012). Diagnostic différentiel des avortements infectieux chez les ruminants : état des lieux en France. *Bulletin des GTV.*, **63**, 99–104.

UNECE. (2013). Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route, ADR applicable à partir du 1er Janvier 2013. [en ligne]. [[http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr\\_f.html](http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr_f.html)]. Consulté le 05/07/14.

VAN DEN BROM R, VAN ENGELEN E, LUTTIKHOLT S, MOLL L, VAN MAANEN K, VELLEMA P. (2012). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from dairy goat and dairy sheep farms in The Netherlands in 2008. *Vet. Rec.*, **170**, 310.

VAN DER HOEK W, MORROY G, RENDERS NHM, WEVER PC, HERMANS MHA, LEENDERS ACAP, SCHNEEBERGER P-M. (2012 a). Epidemic Q fever in humans in the Netherlands. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **984**, 329-364.

VAN DER HOEK W, SCHNEEBERGER P-M, OOMEN T, WEGDAM-BLANS M-C, DIJKSTRA F, NOTERMANS D-W, BIJLMER H-A, GROENEVELD K, WIJKMANS C-J, RIETVELD A, KAMPSCHREUR L-M, VAN DUYNHOVEN Y. (2012 b). Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in the Netherlands : from acute to chronic infection. [en ligne]. [[file:///C:/Users/Marie/Downloads/Q%20Fever%20van%20der%20Hoek%202012%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Marie/Downloads/Q%20Fever%20van%20der%20Hoek%202012%20(1).pdf)]. Consulté le 27/07/14.

VENEREAU E, CHAMPION J-L, PASSERAT DE LA CHAPELLE. (2010). Réglementation et conduite à tenir lors d'avortements. *GDS INFO 2010/2011*. 9-18. [en ligne]. [[http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/7fd3711b845d01b7c1257ce0002f6dda/\\$FILE/ATTTKY1D/Dossier%20Avortement\\_2011.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/7fd3711b845d01b7c1257ce0002f6dda/$FILE/ATTTKY1D/Dossier%20Avortement_2011.pdf)]. Consulté le 26/07/14.

YOO HS. (2010). Infectious causes of reproductive disorders in cattle. *J. Reprod. Dev.* **56**, S53-60.

## Annexe 1 : Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants - Enquête auprès des laboratoires (Enquête 1)

**Gestion des prélèvements reçus par le laboratoire**

**Selon quelles modalités recevez vous les prélèvements réalisés dans le cadre d'un diagnostic d'avortements?**

	Fréquence			Délai d'acheminement			Sans réponse
	Peu fréquent	Fréquent	Majoritaire	< 24 heures	24 - 48 heures	> 48 heures	
Envoi postal	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					
Recours à une navette	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					
Acheminement direct	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					
Autre	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					

---

**Les modalités d'emballage répondent elles en majorité à la réglementation en vigueur ?**

Oui    Non    Sans réponse

---

**Les échantillons vous parviennent ils en majorité sous couvert du froid ?**

Oui    Non    Sans réponse

---

**Dans quel état de conservation se présentent majoritairement les échantillons à leur réception ?**

*Veuillez sélectionner une réponse ci-dessous*

Mal conservé (Putréfié)  
 Inutilisable  
 Bien conservé et exploitable  
 Sans réponse

*Veuillez saisir votre commentaire ici:*

**?** On parlera d'échantillons non utilisables si la qualité des échantillons ne permet pas de faire une analyse dans de bonnes conditions (quantité insuffisante, prélèvement souillé, etc.)

---

**Selon les modalités d'acheminement, observez vous des différences dans l'état des échantillons reçus?**

	Généralement bien conservé	Généralement mal conservé	Etat de conservation très variable	Sans réponse
Envoi postal	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Navette	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Acheminement direct	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Selon leur nature, dans quel état de conservation se présentent majoritairement les échantillons à leur réception ?**

	Mal conservé (Putréfié)	Bien conservé MAIS souillé	Bien conservé ET non souillé	Sans réponse
Avorton entier	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Organes d'avorton	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Placenta entier	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Houppes placentaires	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Ecouvillon vaginal	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Ecouvillon placentaire	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Quelles seraient, selon vous, les conditions qui permettraient d'obtenir des prélèvements de bonne qualité ?**

**De quelles conditions de stockage disposez vous?**

	Durée	Température	Capacité de stockage	Facteur limitant
Adn	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Sérum	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ecouvillon	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Organe	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Autre	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**Avez vous la possibilité de constituer des banques d'échantillons en vue de travaux de recherche par exemple?**

Oui
  Non
  Sans réponse

**Traitement des échantillons**

**Gestion des placentas**

	Oui	Non	Sans réponse
Préparation au laboratoire	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Elimination des zones souillées en surface	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Choix de zones lésées	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Ecouvillonnage	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Broyage	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Gestion des avortons**

	Oui	Non	Sans réponse
Choix des organes fonction de l'agent recherché	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Utilisation de liquides	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Broyage de différents organes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Gestion des écouvillons vaginaux : mise en suspension (description)**

**Réalisez vous des analyses en mélange?**

Oui     Non     Sans réponse

**Extraction des acides nucléiques en vue de PCR**

	ADN			ARN			Sans réponse
	oui	non	selon agent recherché	oui	non	selon agent recherché	
Manuelle	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					
Robotisée	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>					

### Chlamydirose : description des techniques employées

#### Quelles techniques de diagnostic indirect employez-vous?

Cochez la ou les réponses

- |                                                 |                      |
|-------------------------------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> Fixation du complément | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Immunofluorescence     | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> ELISA                  | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Autre                  | <input type="text"/> |

#### Précisez les kits employés

#### Quelles techniques de diagnostic direct utilisez vous?

Cochez la ou les réponses

- |                                                                              |                      |
|------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> Coloration de Stamp                                 | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR conventionnelle                                 | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR Temps Réel                                      | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR monovalente                                     | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR multiplex                                       | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR commerciale                                     | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR maison                                          | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Existence d'une gamme étalon pour la quantification | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> ELISA à antigénémie                                 | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Antigénémie par FC                                  | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Antigénémie par immunofluorescence                  | <input type="text"/> |

#### Précisez les kits employés

**Disposez vous d'une méthode d'identification de l'espèce ?**

Cochez la ou les réponses

RFLP

Autre

**Restitution des résultats**

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Expression des incertitudes de mesure
Diagnostic indirect	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diagnostic direct	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**?** Dans chaque case, mentionnez "oui ou non" ou rajoutez un commentaire si cela vous semble nécessaire.

**Interprétation des résultats à l'échelle individuelle**

	Interprétation		Utilisation d		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
ELISA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Autres	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés**

**Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)**

	Interprétation		Utilisation d		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
ELISA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Autre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées**

**Commentaires**

**?** Notamment : Si d'autres techniques sont disponibles dans votre laboratoire et si vous y recourez ponctuellement, dans des contextes, par exemple cliniques, particuliers, merci d'apporter vos commentaires.

### Toxoplasmose : description des techniques employées

#### Quelles techniques de diagnostic indirect employez vous?

Cochez la ou les réponses

- |                                                       |                      |
|-------------------------------------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> ELISA sur le sang de la mère | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> ELISA sur liquides foetaux   | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Autre                        | <input type="text"/> |

#### Précisez les kits employés

#### Quelles techniques de diagnostic direct employez vous ?

Cochez la ou les réponses

- |                                                                                   |                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> PCR conventionnelle                                      | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR temp réel                                            | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR multiplex                                            | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR du commerce                                          | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> PCR maison                                               | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Existence d'une gamme étalon en vue de la quantification | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Immunohistochimie                                        | <input type="text"/> |

#### Précisez les kits employés

#### Restitution des résultats

	Qualitatif	Semi-Quantitatif	Quantitatif	Expression des incertitudes de mesures
Diagnostic indirect	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diagnostic direct	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**?** Dans chaque case, mentionnez "oui ou non" ou rajoutez un commentaire si cela vous semble nécessaire.

**Interprétation des résultats à l'échelle individuelle**

	Interprétation		Utilisation d'un seuil		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
ELISA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Immunohistochimie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Autre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés**

**Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)**

	Interprétation		Utilisation d'une grille		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
ELISA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Immunohistochimie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Autre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées**

**Commentaires**


**?** Notamment : Si d'autres techniques sont disponibles dans votre laboratoire et si vous y recourez ponctuellement, dans des contextes, par exemple cliniques, particuliers, merci d'apporter vos commentaires.

### Border disease : description des techniques employées

#### Quelles techniques de diagnostic indirect employez vous ?

Cochez la ou les réponses

- |                                                                       |                      |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> ELISA anticorps anti-P80 sur sérums          | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> ELISA anticorps anti-P80 sur plasma          | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> ELISA anticorps anti-P80 sur lait de mélange | <input type="text"/> |
| <input type="checkbox"/> Séroneutralisation                           | <input type="text"/> |

**?** Pour chaque technique, précisez si nécessaire dans l'espace dédié aux commentaires, si vous réalisez les analyses en individuel ou en mélange et dans le cas d'un mélange combien d'échantillons maximum composent le mélange

#### Précisez les kits employés

#### Diagnostic direct : recourez vous à l'antigénémie

Oui  Non  Sans réponse

#### Diagnostic direct : recourez vous aux PCR ?

Oui  Non  Sans réponse

#### Restitution des résultats

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Expression des incertitudes de mesures
Sérologie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Antigénémie P80	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Antigénémie P0	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
PCR	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**?** Dans chaque case, mentionnez "oui ou non" ou rajoutez un commentaire si cela vous semble nécessaire.

**Interprétation des résultats à l'échelle individuelle**

	Interprétation		Utilisation d'un seuil		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
Sérologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Antigénémie P80	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Antigénémie P0	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés****Interprétation à l'échelle du lot (ou du troupeau)**

	Interprétation		Utilisation d'une grille		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
Sérologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Antigénémie P80	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Antigénémie P0	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées****Commentaires**

**?** Notamment : Si d'autres techniques sont disponibles dans votre laboratoire et si vous y recourez ponctuellement, dans des contextes, par exemple cliniques, particuliers, merci d'apporter vos commentaires.

**Salmonellose : description des techniques employées**

**Quelles techniques de diagnostic indirect employez vous?**

*Cochez la ou les réponses*

- Séro-agglutination
- ELISA
- Autre

**Précisez les kits employés**

**Quelles techniques de diagnostic direct employez vous ?**

*Cochez la ou les réponses*

- PCR conventionnelle
- PCR temps réel
- PCR monovalente
- PCR multiplex
- PCR du commerce
- PCR maison
- Bactériologie

**Indiquez sur quelles matrices ces analyses sont réalisées.**

	liquides foetaux		mucus vaginal		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bactériologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez les kits employés**

**Restitution des résultats**

	Qualitatif	Semi-quantitatif	Quantitatif	Expression des incertitudes de mesure
Diagnostic indirect	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diagnostic direct	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**?** Dans chaque case, mentionnez "oui ou non" ou rajoutez un commentaire si cela vous semble nécessaire.

**Interprétation des résultats à l'échelle individuelle**

	Interprétation		Utilisation d		Sans réponse
	oui	non	oui	non	
Sérologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bactériologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les seuils employés**

**Précisez si besoin les modalités d'interprétation en fonction des matrices / techniques employées, les grilles employées**

**Commentaires**

**?** Notamment : Si d'autres techniques sont disponibles dans votre laboratoire et si vous y recourez ponctuellement, dans des contextes, par exemple cliniques, particuliers, merci d'apporter vos commentaires.

**Interprétation des résultats à l'échelle du lot (ou du troupeau)**

	Interprétation		Utilisation d'une grille		Sans réponse
	oui	non	oui	n	
Sérologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
PCR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bactériologie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

**Conseil en termes de prélèvements et d'analyses**

**Fournissez vous aux prescripteurs un guide de prélèvement indiquant par exemple le type de matrice à prélever, la quantité nécessaire, le mode de conservation ?**

Oui  Non  Sans réponse

**Si oui, ces conseils sont-ils mentionnés :**

*Veillez sélectionner une réponse ci-dessous*

Sur la fiche de demande d'analyse

Sur un document à part

Les deux

Sans réponse

*Veillez saisir votre commentaire ici:*

**Ces recommandations sont elles suivies ?**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Sans réponse
Niveau de suivi	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>									

**?** Evaluation de la qualité du suivi des recommandations : de 1 nul ou très mauvais, à 10 excellent

## Annexe 2 : Enquête sur les analyses visant la fièvre Q pour le diagnostic des avortements chez les ruminants (Enquête 2)

N° du département :

.....

Noms (tel et e-mail) des personnes ayant répondu :

.....

.....

.....

.....

Dans la suite du document : cocher la case en cas de réponse positive

### Q1. ACHEMINEMENT DES PRELEVEMENTS AUTRES QUE SANG OU SERUM

Q1.1 L'acheminement des prélèvements au Laboratoire s'effectue par :

Poste :  Estimation % :|..... Durée :|.....

Navette Labo :  Estimation % :|..... .....Durée :|.....

Eleveur :  Estimation % :|..... .....Durée :|.....

Autre (*préciser*) : ..... Estimation % :|..... .....Durée :|.....

Q1.2 Le Laboratoire fournit des emballages réglementaires :

Si non, l'emballage utilisé est-il conforme à la réglementation du transport des échantillons biologiques par la route : Toujours   
Parfois  Jamais

Q1.3 Comment s'effectue le financement de l'emballage et du transport des prélèvements :

.....

.....

## Q2. DESCRIPTIONS DES DEMANDES D'ANALYSE POUR LA FIEVRE Q ABORTIVE

### INFORMATIONS SUR LA DEMANDE D'ANALYSE

**Q2.1** Il existe un support de demandes d'analyses dédié aux recherches des causes infectieuses d'avortements dans votre département :

**SVP, joindre le ou les documents correspondants lors du retour du questionnaire.**

**Q2.2** Le commémoratif de la demande d'analyse renseigne sur :

L'espèce animale

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

L'âge

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

Le rang de portée

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

La date de prélèvement

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

La date de l'avortement

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

Le stade de gestation

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

Le nombre ou la proportion d'avortements ayant suscité des analyses

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

### NOMBRE D'ANALYSES DE FIEVRE Q PAR AN

**Q2.3** Merci d'indiquer le nombre d'analyses réalisées **pour la fièvre Q abortive**, et celles trouvées positives, sur l'année **2009** :

Espèces / Analyses	Diagnostic direct		Sérologie	
	Total	Positif	Total	Positif
Bovins	.....	.....	.....	.....
Ovins	.....	.....	.....	.....
Caprins	.....	.....	.....	.....

### Q3. TECHNIQUES D'ANALYSES UTILISEES POUR LA FIEVRE Q ABORTIVE

#### DIAGNOSTIC DIRECT

**Q3.1** Vous utilisez la **coloration de STAMP** pour la mise en évidence directe de l'agent :

Si oui, votre expérience vous permet de :

Différencier *Coxiella*, *Chlamydia* et *Brucella* :   
Qualifier un prélèvement de fortement positif :

**Q3.2** Vous utilisez **une méthode par PCR** pour la mise en évidence directe de *Coxiella* :

Si non, vous comptez introduire la PCR *Coxiella*  
dans votre laboratoire :

Si oui, préciser le délai : .....

Si oui à la question Q3.2, merci de compléter les informations suivantes :

- Pouvez-vous préciser la méthode PCR utilisée :

Conventionnelle (sur gel) :   
Temps réel :

Monovalente :   
Multivalente (plusieurs agents) :

- Pouvez-vous indiquer s'il s'agit d'une méthode PCR développée en interne (« maison »)  
ou d'un kit PCR commercial :

« Maison »   
Si oui,

quel gène cible : IS1111  Autre (*préciser*) .....

quel contrôle interne : GAPDH  Autre (*préciser*) .....

Commerciale   
Si oui,

quel kit : Adia-gène  LSI  Autre (*préciser*) .....

- Avec quelle méthode réalisez-vous l'extraction de l'ADN :

Nom Fabricant : .....

Manuelle   
Robotique

- En termes de procédés techniques sur les matrices préalablement à l'extraction de l'ADN :

▫ Pour un placenta issu d'un animal avorté, vous réalisez la PCR sur :

1 seul cotylédon   
Plus d'1 cotylédon  Préciser combien : .....

Après broyage   
Après écouvillonnage   
Autre procédé (préciser) .....

▫ Vous pratiquez des analyses par PCR sur le mélange :

D'organes issus d'un avorton :

De prélèvements issus de plusieurs animaux :

Si oui, pour combien d'animaux :

2  3  >3

En cas de positivité du mélange, vous réalisez des analyses supplémentaires en individuel :

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

▫ Vous pratiquez des analyses par PCR sur lait dans le cadre du diagnostic abortif :

Toujours  Souvent  Parfois  Jamais

**Q3.3** Si l'offre vous était présentée, vous participeriez à des essais inter-laboratoires d'aptitude en PCRq en temps réel :

Si non, pourquoi ?

.....

**Q3.4** Vous souhaitez que les Laboratoires disposent des mêmes ADN standards (fournis par le LNR) pour :

Contrôler les essais :   
Disposer d'une gamme de quantification :

**DIAGNOSTIC INDIRECT**

**Q3.5** Vous utilisez **principalement** la technique :

ELISA

Si oui,

*Préciser le nom du fabricant du kit :*

.....

Fixation du Complément

Si oui,

*Préciser le nom du fabricant de l'antigène :*

.....

Autre (préciser)

.....

**Q3.6** En termes de procédés techniques :

▫ Vous pratiquez des analyses sérologiques de mélanges de sérums issus de plusieurs animaux :

Si oui,

combien d'animaux : .....

en cas de positivité du mélange, vous réalisez des analyses supplémentaires en individuel :

Toujours

Souvent

Parfois

Jamais

▫ Vous pratiquez des analyses sérologiques de lait dans le cadre du diagnostic abortif :

Toujours

Souvent

Parfois

Jamais

**Q3.7** Vous souhaitez participer aux prochains essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) pour la sérologie par ELISA (prévus en 2011) :

Si non, pourquoi ?

.....

**Q3.8** Vous souhaitez que les Laboratoires disposent des mêmes sérums positifs et négatifs (fournis par le LNR) pour contrôler les essais :

## Q4. INTERPRETATION DES RESULTATS D'ANALYSES UTILISEES POUR LA FIEVRE Q ABORTIVE

### DIAGNOSTIC DIRECT

Les renseignements sont demandés aux Laboratoires qui réalisent les analyses par PCR.

**Q4.1** Lors de la restitution des résultats de PCR, sous quelle forme rendez-vous votre résultat à votre client (*plusieurs réponses possibles*) :

Au format qualitatif (« Positif » / « Négatif ou Absence »)

Inscrivez le seuil d'interprétation (si différent de celui du fabricant) :

.....

En utilisant une quantification relative (notion de charge bactérienne)

▫ « Positif Fort » – « Positif Faible » – « Négatif ou Absence » .....

Inscrivez le(s) seuil(s) d'interprétation (si différent de celui du fabricant) :

.....

▫ « Positif et Valeur de Ct » – « Négatif, Absence ou Non détectable » .....

Inscrivez le seuil d'interprétation (si différent de celui du fabricant) :

.....

▫ Autre (*préciser*) .....

En utilisant une quantification absolue (résultat quantitatif)

▫ Exprimée en copies du gène cible

Inscrivez le(s) seuil(s) d'interprétation (si différent de celui du fabricant) :

.....

▫ Exprimée en nombre de Bactéries

Inscrivez le(s) seuil(s) d'interprétation (si différent de celui du fabricant) :

.....

▫ Autre (*préciser*) .....

**Q4.2** Si vous pratiquez les analyses par **PCR quantitative en temps réel** :

- Préciser l'unité en fonction des matrices (*côcher les cases correspondantes dans le tableau suivant*) :

<b>Unités / Matrices</b>	Placenta	Tissu avorton	Liquide avorton	Mucus vaginal
Par gramme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Par milligramme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Par écouvillon	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Par millilitre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- La quantification est établie à l'aide d'une gamme incluse dans chaque série d'analyse :

Si non, seriez vous prêt à cette mise en place

(au moins 4 points) :

- En dehors des valeurs comprises entre les limites de quantification (maxi, mini), vous restituez le résultat en indiquant :

> ou < aux valeurs extrêmes (maxi, mini)

La valeur quantitative

- La valeur du résultat est normalisée par rapport à un gène de référence endogène (proposition du kit LSI) :

- Vous restituez les incertitudes de mesures sur :

Le seuil de positivité :

Le résultat PCRq :

**DIAGNOSTIC INDIRECT**

**Q4.3** Lors de la restitution des résultats sérologiques, sous quelle forme rendez-vous votre résultat (*plusieurs réponses possibles*) :

Au format qualitatif (Positif / Négatif)

En utilisant une quantification relative (notion de taux d'anticorps)

Selon les interprétations du fournisseur

Autre (*préciser*) .....

Au format quantitatif

Pourcentage de DO

Pourcentage (indirect ou compét.)

Titre

Autre (*préciser*) .....

En indiquant le(s) seuil(s) d'interprétation

*SVP, inscrivez les seuils d'interprétation (si différent de ceux du fabricant) :*

.....

**Q4.4** Restituez-vous les incertitudes de mesures sur :

Le seuil de positivité utilisé:

Le résultat sérologique par échantillon:

#### **DIAGNOSTIC GLOBAL**

**Q4.5** Le rendu de résultats est :

Individuel pour chaque analyse

Individuel pour l'animal testé (1 ou plusieurs analyses)

Groupé pour plusieurs animaux (1 lot ou le troupeau)

**SVP, joindre un (ou plusieurs) exemple(s) de rapport de résultats lors du retour du questionnaire.**

**Q4.6** Vous connaissez les propositions issues d'un groupe de travail piloté par l'ACERSA en 2007 en matière de diagnostic et de plan maîtrise de la fièvre Q clinique en élevages de ruminants :

Si oui,

vous avez appliqué les propositions diagnostiques dans votre Laboratoire :

Complètement

Partiellement

Jamais

**Q4.7** Quelles sont les 3 principaux éléments qui vous paraissent importants pour élaborer des modalités de diagnostic harmonisé dans les Laboratoires départementaux ?

.....

.....

.....

.....

## Q5. COÛTS DES ANALYSES POUR LA FIEVRE Q ABORTIVE

### DIAGNOSTIC DIRECT

**Q5.1** Quel est le coût moyen d'une analyse PCR *Coxiella* réalisée dans votre Laboratoire lors d'avortement pour :

Une valence isolée sur un échantillon :

..... par échantillon, ..... par série d'échantillons

Plusieurs valences sur un échantillon :

..... par échantillon, ..... par série d'échantillons

### DIAGNOSTIC INDIRECT

**Q5.2** Quel est le coût moyen d'une analyse sérologique réalisée dans votre Laboratoire lors d'avortements pour :

L'analyse d'un échantillon sanguin .....

L'analyse d'une série d'échantillons .....

## Q6. CAPACITES DE STOCKAGE POUR TOUS LES TYPES DE PRELEVEMENTS ANALYSES

**Q6.1** Quelles sont vos conditions et capacités actuelles de stockage de chacun des types de prélèvements/échantillons suivants :

Type	Quantité (en volume)	Type contenant	de Condition température (+4°C ; -20°C ; -80°C)	de Nombre (max)	Durée (min – max)
<i>Ex : placenta</i>	<i>5 mL</i>	<i>Tube de 50 mL</i>	<i>-80°C</i>	<i>50</i>	<i>1 – 3 mois</i>
Placenta	.....	.....	.....	.....	.....
Tissu avorton	.....	.....	.....	.....	.....
Liquide avorton	.....	.....	.....	.....	.....
Mucus vaginal	.....	.....	.....	.....	.....



## **Annexe 3 : Enquête concernant la méthodologie de prélèvement et d'identification d'agents abortifs ovins et caprins auprès des vétérinaires praticiens (Enquête 3)**

Thèse : « *Enquête concernant la méthodologie de prélèvement et d'identification d'agents abortifs ovins et caprins auprès des différents partenaires sollicités lors d'avortements (laboratoires départementaux, GDS, vétérinaires praticiens, SNGTV)* »

### **Questions préliminaires : (objectif : apprécier le niveau de déclaration des éleveurs)**

- 1- Dans quelle proportion estimez vous que les éleveurs déclarent un avortement ou une série d'avortements ponctuels ovin/caprin ?
  - a. Dans plus de 50 % des cas
  - b. Dans moins de 50% des cas
  - c. Rarement voire jamais
  
- 2- Dans quelle proportion estimez vous que les éleveurs déclarent plusieurs avortements groupés (3 et +) ?
  - a. Dans plus de 50 % des cas
  - b. Dans moins de 50% des cas
  - c. Rarement voire jamais
  
- 3- Pour vous, quel est le frein à la déclaration d'avortement ovin/caprin ? (plusieurs réponses possibles)
  - a. Procédure trop fastidieuse, trop administrative
  - b. Ignorance d'un financement par l'état
  - c. La brucellose n'est pas un sujet de préoccupation pour les éleveurs
  
- 4- Pensez vous que l'on devrait obliger l'éleveur à ne réaliser une déclaration qu'après plusieurs avortements ?
  - a. Oui
  - b. Non

à partir de combien en moins d'une semaine ?

  - a. Trois (comme cela est proposé lors du nouveau protocole déclaration des avortements à Fièvre Q)
  - b. Cinq
  - c. Plus

### **Questions concernant les prélèvements en vue d'un diagnostic étiologique**

- 5- Existe-t-il un protocole d'avortement ?
  - a. Oui
  - b. non

- 6- Qui l'a mis en place ?
- le GDS
  - Le GDS et le GTV départemental
  - Une autre structure
- 7- A propos du financement de ces protocoles avortement, quelle est la situation dans votre département ?
- Financement par le GDS
  - Financement par le Conseil général / régional
  - Pas de financement
- 8- S'il y a un financement par le GDS, quelles sont les conditions de prise en charge ?
- Déclaration préalable d'avortement
  - Recherche préalable d'un agent étiologique
  - Nombre d'avortements
  - Ne sais pas
- 9- Qu'est ce qui motive pour vous la demande d'analyse (plusieurs réponses possibles) ?
- La demande de l'éleveur
  - Une épidémie : plus d'une dizaine d'avortements dans l'élevage en 1 à 2 semaines
  - Des avortements chroniques : des avortements qui se répètent chaque année
  - 3 avortements minimum en 7 jours ou moins (correspond au protocole expérimental Fièvre Q)
- 10- Outre les prélèvements sanguins sur l'animal avorté et sur des congénères, quels types de prélèvements effectuez-vous (plusieurs réponses possibles)?
- Prélèvement de placenta
  - Avorton entier
  - Prélèvement d'organes sur l'(les) avorton(s)
  - Pas d'autre prélèvement
- 11- Sur combien d'animaux effectuez-vous vos prélèvements (prise de sang) lors d'un protocole d'avortement ?
- Seulement sur l'animal avorté
  - Sur l'animal avorté, des mères présentant des problèmes de reproduction (femelles primipares et multipares)
  - Sur des animaux tout venants
- 12- Comment se passe le transport des prélèvements vers le laboratoire départemental ?
- Collecte
  - Envoi postal
  - Autre
- Si Autre, justifiez :
- 13- Vous arrive-t-il d'envoyer des prélèvements vers d'autres laboratoires que le laboratoire départemental ? Si oui, pourquoi ?

14- A quelle température stockez-vous les prélèvements avant de les envoyer ?

- a. Prises de sang :
  - i) Immédiatement sous froid positif
  - ii) Froid positif après 12 heures à température ambiante
  - iii) Envoi immédiat sous froid positif
- b. Prélèvement de placenta, avorton entier, d'organes sur l'(les) avorton(s) :
  - i) Immédiatement sous froid positif
  - ii) Prélèvement congelé
  - iii) Envoi immédiat sous froid positif

15- Existe-t-il un protocole de prélèvement et d'envoi défini par le laboratoire de votre département et/ou par le GDS et la SNGTV ?

- a. Oui
- b. Non

16- Les prélèvements sont-ils analysés en cas de non respect des protocoles d'envoi lorsqu'ils existent ?

- a. Oui
- b. Non

17- Quels sont les agents recherchés en première intention ?

- a) Les cinq principaux (voir question ci-dessous)
- b) D'autres : citez-les

18- Parmi ces 5 principales maladies abortives (Fièvre Q, Chlamydie, Salmonellose, Border disease et Toxoplasmose, lesquelles considérez vous comme fréquentes sur votre clientèle : classez les par ordre d'importance ?

- a) .....
- .....
- b) .....
- .....
- c) .....
- .....
- d) .....
- .....
- e) .....
- .....

19- Des formations sur la gestion des avortements vous sont-elles proposées ?

- a. Par la SNGTV
  - i. Au niveau national
  - ii. Au niveau régional
  - iii. Au niveau départemental
- b. Dans le mandat sanitaire
- c. Autre

20- Participez-vous à ces formations ?

- a. Oui
- b. Non

Si Non, justifiez :

21- Quelle est votre attente vis-à-vis des protocoles de diagnostic différentiel d'avortements ovin/caprin ?

- a. Qu'il vous guide dans votre diagnostic
- b. Que le résultat soit directement interprété par le laboratoire

22- Selon vous, quel est le ressenti des éleveurs vis-à-vis des protocoles de diagnostic différentiel d'avortements ovin/caprin ?

- a. Cela représente un coût financier (malgré l'aide) qui n'apporte pas de réponses suffisantes
- b. Cela représente un coût financier qui reste cependant un bon outil pour le diagnostic

23- Quel est votre ressenti par rapport aux résultats d'analyses que vous recevez après la mise en place du protocole d'avortement?

- a. Les résultats sont décevants
- b. Les résultats sont acceptables
  - i. car ils permettent d'éliminer certaines étiologies
  - ii. car ils permettent une suspicion
- c. Les résultats sont intéressants

## Annexe 4 : Arbres décisionnels et protocoles préconisés pour la recherche des agents abortifs primaires

*Orientation du choix des matrices à analyser en vue d'un diagnostic indirect pour les maladies de première intention (De Cremoux et al., 2013)*

Chlamydirose	Toxoplasmose	Salmonellose abortive ovine	Border disease
Augmentation significative du titre Anticorps ou séroconversion chez les femelles ayant avorté		Séroagglutinations (IgM) sur les femelles ayant avorté Analyse des titres Anticorps	Séroprévalence sur animaux sentinelles
	Séronégatifs (femelles ayant avorté) : Diagnostic d'exclusion		Séronégatifs (animaux sentinelles) : Diagnostic d'exclusion

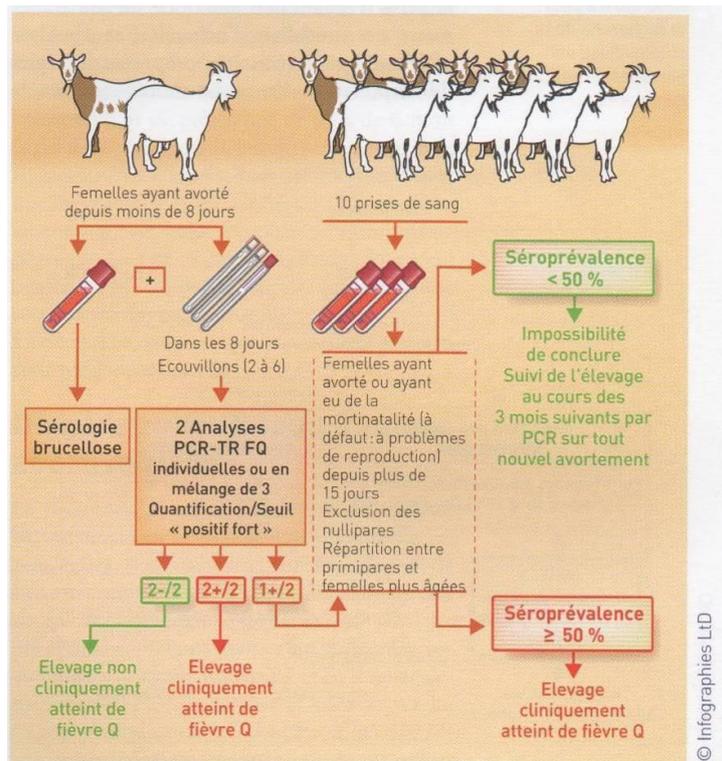
© Infographies LTD

*Orientation du choix des matrices à analyser en vue d'un diagnostic direct pour les maladies de première intention (De Cremoux et al., 2013)*

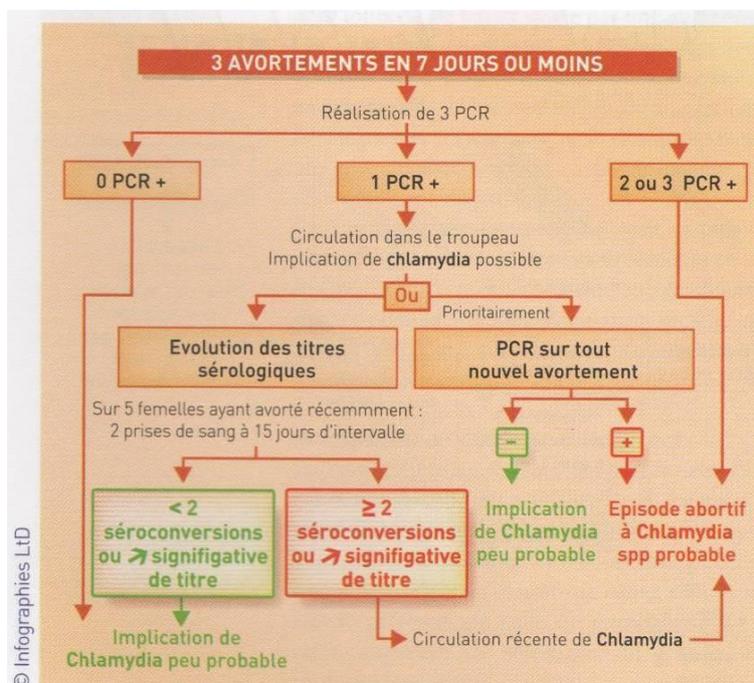
Fièvre Q	Chlamydirose	Toxoplasmose	Border disease	Salmonellose abortive ovine
Mucus vaginal Houppes cotylédonaire Organes avorton	Organes avorton Houppes cotylédonaire Mucus vaginal	Encéphale > foie Houppes cotylédonaire	Encéphale-peau-rein-rate-foie Houppes cotylédonaire Sang (agneaux)	Contenu stomacal > foie Houppes cotylédonaire
Amplification des acides nucléiques : recours aux PCR				Bactériologies
Analyse en mélange possible (n=3) Analyse quantitative indispensable (sauf sur avorton)	Harmonisation envisageable par rapport à la fièvre Q Analyse en mélange non interprétable à ce jour, non retenue	Hétérogénéité de la distribution de T. gondii Analyse en mélange retenue (plusieurs organes et/ou animaux)	Distribution large du virus Analyse en mélange retenue	Analyse en mélange non retenue

© Infographies LTD

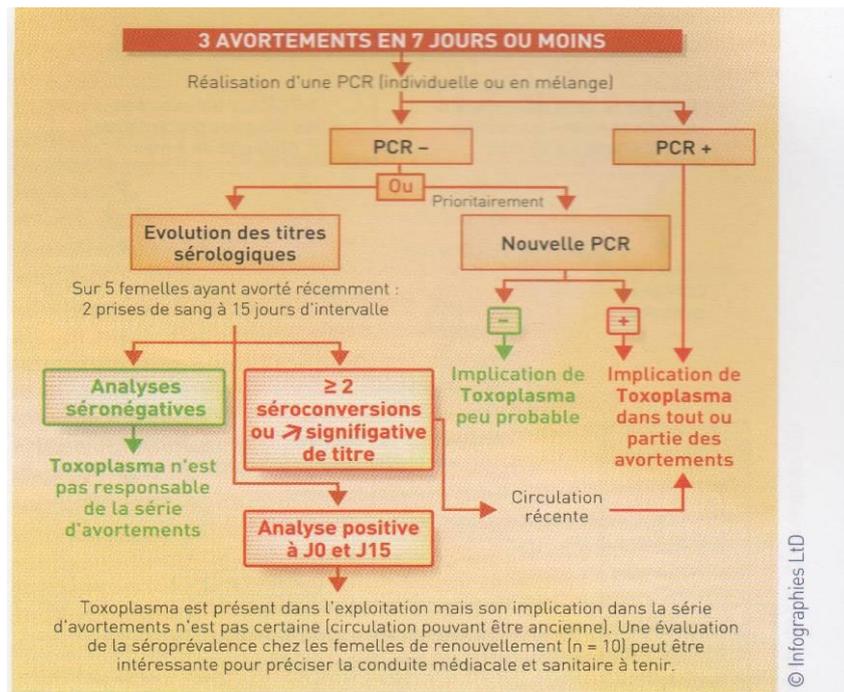
Principes de la démarche diagnostique mise en œuvre pour la recherche de la fièvre Q clinique en élevages de petits ruminants (De Cremoux et al., 2013)



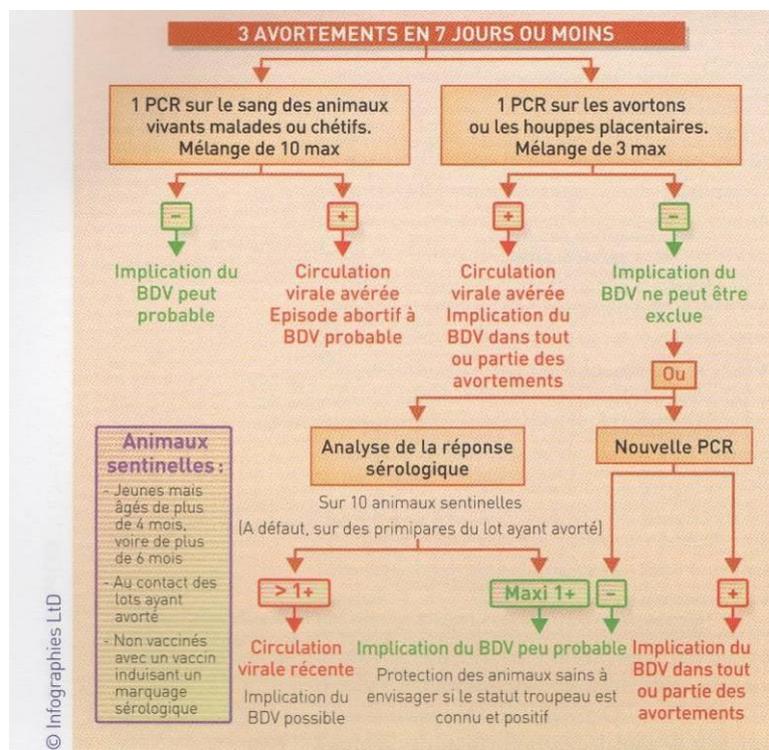
Principes de la démarche diagnostique mise en œuvre pour la recherche de la chlamydie en élevages de petits ruminants (De Cremoux et al., 2013)



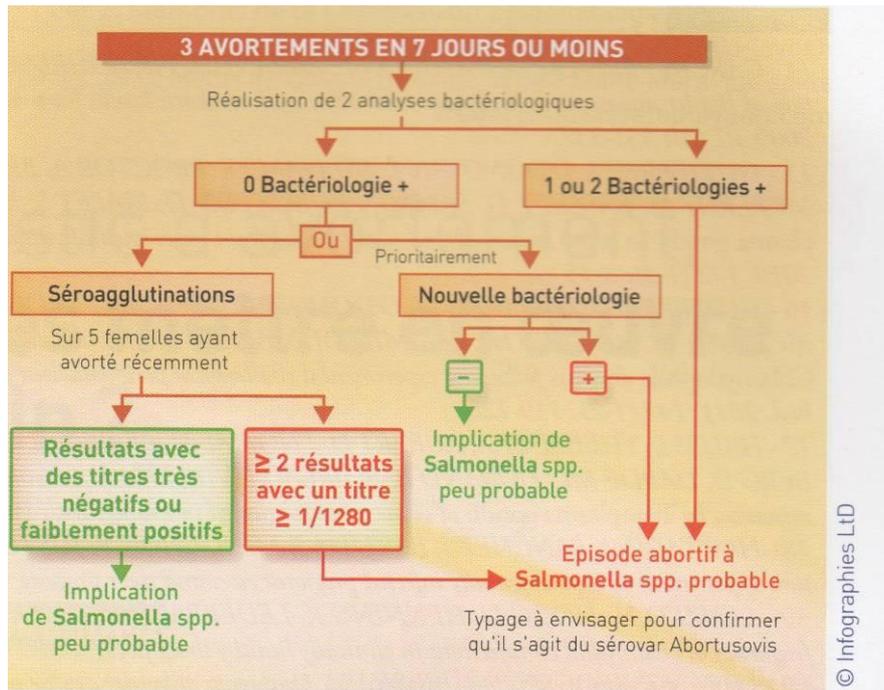
Principes de la démarche diagnostique mise en œuvre pour la recherche de la toxoplasmose en élevages de petits ruminants (De Cremoux et al., 2013)



Principes de la démarche diagnostique mise en œuvre pour la recherche de la Border Disease en élevages de petits ruminants (De Cremoux et al., 2013)



Principes de la démarche diagnostique mise en œuvre pour la recherche de la salmonellose abortive ovine en élevages de petits ruminants (De Cremoux et al., 2013)





# **ENQUÊTE CONCERNANT LA MÉTHODOLOGIE DE PRÉLÈVEMENT ET D'IDENTIFICATION D'AGENTS ABORTIFS OVINS ET CAPRINS AUPRÈS DES DIFFÉRENTS PARTENAIRES SOLlicitÉS LORS D'AVORTEMENTS (LVD, GDS, VÉTÉRINAIRES PRATICIENS, SNGTV)**

**CALVINHAC Marie**

## **Résumé :**

Depuis quelques années, la gestion des avortements chez les petits ruminants semble être un sujet de préoccupation majeur pour les acteurs de la filière. Cinq agents abortifs dits « prioritaires » ont été définis et retiennent l'attention des acteurs de la santé animale en raison de leur prévalence, du risque zoonotique qu'ils présentent et des pertes économiques qu'ils entraînent dans les élevages de petits ruminants français. Ainsi, des études actuelles sont menées pour développer des protocoles de diagnostic différentiel permettant une pratique nationale harmonisée. Des tests de terrain sont en cours pour déterminer si ces méthodes uniformisées augmentent le taux d'élucidation et la prise de conscience des acteurs de la santé animale. Il semble que l'attente soit grande mais la gestion des avortements et l'augmentation des performances dans la recherche et l'identification des différents agents abortifs prioritaires passent par l'implication de chacun des partenaires cités dans cette étude. Une étude a été menée, qui complète deux enquêtes préalables. La première enquête préalable consistait à interroger les LVD sur leur gestion du diagnostic différentiel portant sur la chlamydie, la toxoplasmose, la Border disease et la salmonellose abortive ovine. La seconde avait la même cible mais ne portait que sur la gestion de la fièvre Q. Enfin la troisième et dernière enquête, objet de cette thèse, effectuée auprès des vétérinaires praticiens, avait pour but de déterminer :

- la façon dont sont gérés les avortements sur le terrain,
- le ressenti des praticiens face à ces épisodes abortifs et
- leurs impressions sur les attentes des éleveurs sur ce point.

Ainsi, 29 laboratoires ont participé à l'enquête 1, 33 à l'enquête 2 et 55 vétérinaires se sont exprimés sur l'enquête 3. Il ressort de ces trois enquêtes que les principaux freins à une pratique harmonisée nationale sont des variations :

- dans les méthodes d'analyses et les matrices choisies par les laboratoires d'un département à l'autre et
- dans la nature des prélèvements effectués par les vétérinaires praticiens, créant ainsi également une variabilité dans les analyses imposées par la nature des prélèvements reçus.

De plus, le conditionnement et le mode d'acheminement des prélèvements ne sont pas toujours optimaux et cela peut altérer la qualité des échantillons voire rendre impossible la réalisation de certaines analyses.

**Mots clés :** AVORTEMENT / ABORTIF / PROTOCOLE / DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL / IDENTIFICATION / SANTE ANIMALE / PRELEVEMENT / FIEVRE Q, / CHLAMYDIOSE / SALMONELLOSE ABORTIVE OVINE / TOXOPLAMSOSE / BORDER DISEASE / COXIELLA BURNETII / CHLAMYDOPHILA ABORTUS / SALMONELLA ABORTUS OVIS / TOXOPLASMA GONDII / ANALYSE DE LABORATOIRE / VETERINAIRE / RUMINANT /OVIN / CAPRIN

## **Jury :**

Président : Pr.

Directeur : Dr. Dominique RÉMY

Assesseur : Pr. Yves MILLEMANN

# **STUDY ON SAMPLING METHODOLOGY AND IDENTIFICATION OF OVINE AND CAPRINE ABORTIVE AGENTS WITH THE VARIOUS STAKEHOLDERS REQUESTED DURING ABORTIONS**

**CALVINHAC Marie**

## **Summary**

Since a few years, management of abortions in small ruminants seems to be a major concern for actors of the sector. Five abortive so-called priority agents were defined, which attract attention of animal health actors due to their prevalence, the associated zoonotic risk and the economic losses that they cause in French small ruminants farms. Thus, current studies are carried out in order to develop differential diagnosis protocols allowing a harmonized national practice. Field tests are in progress to determine if these standardized methods increase the clearance rate and the awareness of animal health actors. It seems that expectations are huge but management of abortions and increase of performances in the research and the identification of the various priority abortive agents require the involvement of each of the partners quoted in this study. A study was led that completes two preliminary inquiries. The first one consisted in questioning the departmental veterinary laboratories about their management of the differential diagnosis concerning chlamydiosis, toxoplasmosis, Border disease and ovine abortive salmonellosis. The second inquiry had the same target but concerned only the management of Q fever. Finally, the third and last inquiry, which is the object of this study, was conducted with veterinarian practitioners, and aimed at determining:

- the way abortions are managed in the field,
- the feeling of practitioners in front of these abortive episodes and
- their impressions on breeders' expectations on this point.

Thus, 29 laboratories participated in the survey nb. 1, 33 laboratories participated in the survey nb. 2 and 55 veterinarians expressed themselves in the survey nb. 3. It emerges from these three surveys that the main barriers towards a national harmonized practice are variations in:

- methods of analysis and matrices chosen by laboratories from one department to another, and
- the samples made by veterinarian practitioners, which induce a variability in analyses imposed by the nature of these samples.

Furthermore, packaging and way of transport of samples are not still optimal and can alter their quality, or even make impossible the realization of some analyses.

**Keywords :** ABORTION / ABORTIFACIENT / PROTOCOL / DIFFERENTIAL DIAGNOSIS / IDENTIFICATION / ANIMAL HEALTH / TAKING / Q. FEVER / CHLAMYDIOSIS / OVINE ABORTIVE SALMONELLOSIS / TOXOPLASMOSESIS / BORDER DISEASE / COXIELLA BURNETII / CHLAMYDOPHILA ABORTUS / SALMONELLA ABORTUS OVIS / TOXOPLASMA GONDII / ANALYSIS OF LABORATORY / VETERINARIAN / RUMINANT / SHEEP / GOAT

## **Jury :**

President : Pr.

Director : Dr. Dominique RÉMY

Assessor : Pr. Yves MILLEMANN