

Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants

Mise en place d'un dispositif de valorisation des résultats de
diagnostic différentiel des avortements

Plateforme nationale d'épidémiologie en santé animale

Octobre 2016

Sommaire

Glossaire	3
Introduction	4
Principes de la démarche	4
Objectifs du dispositif	5
Présentation des protocoles de DDA	5
Conception des protocoles nationaux harmonisés	5
Nature des maladies prises en compte en 1 ^{ère} et 2 ^{ème} intention.....	6
Période prise en compte	9
Niveaux d'imputabilité pour les grilles d'interprétation des résultats.....	9
Remontées des données de DDA.....	11
Retour d'informations	11
Ressources.....	11
Remerciements	12
Annexe 1 : Protocole Bovins	13
Annexe 2 : Protocole Petits Ruminants	29

Glossaire

Acersa : Association pour la certification de la santé animale en élevage

Adilva : Association française des directeurs et cadres de laboratoires vétérinaires publics d'analyses

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

DDA : Diagnostic différentiel des avortements

DDecPP : Direction départementale en charge de la protection des populations

DGAL : Direction générale de l'Alimentation

EILA : Essai inter-laboratoires d'aptitude

Elisa : Enzyme-linked immunosorbent assay (méthode de dosage immuno-enzymatique utilisée en immunologie pour détecter des anticorps ou des antigènes)

ENVT : Ecole nationale vétérinaire de Toulouse

FRGDS : Fédération régionale des groupements de défense sanitaire

FRGTV : Fédération régionale des groupements techniques vétérinaires

GDS : Groupement de défense sanitaire

GTV : Groupement technique vétérinaire

LDA : Laboratoire départemental d'analyses

LNR : Laboratoire national de référence

OSCAR : Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants

PCR : Polymerase chain reaction (amplification en chaîne par polymérase)

Plateforme ESA : Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale

SNGTV : Société nationale des groupements techniques vétérinaires

Introduction

L'Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants (Oscar) vise à valoriser les résultats de diagnostic différentiel des avortements. Sa finalité est d'améliorer la connaissance des causes infectieuses des avortements, afin d'adapter les mesures de diagnostic, de prévention, et de lutte. Il est mené dans le cadre de la thématique « Avortements chez les ruminants », qui est l'une des thématiques prioritaires de la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA). Ce projet est piloté par GDS France, avec l'appui d'un groupe de suivi qui réunit des acteurs locaux (LDA, DDecPP, GDS, GTV), et des représentants nationaux (DGAL, Anses, Adilva, SNGTV, l'Institut de l'Elevage, Oniris et Coop de France).

Principes de la démarche

La démarche consiste à colliger les résultats de diagnostic différentiel des avortements (DDA) chez les ruminants. A cet effet, des protocoles standardisés ont été élaborés en fonction des connaissances et des outils actuellement disponibles.

Cette démarche est utile à trois niveaux complémentaires :

- **Le diagnostic individuel** dans un élevage donné (service individuel à l'éleveur) : les protocoles de DDA permettent au vétérinaire et à l'éleveur de conduire le diagnostic dans des conditions techniques optimisées. L'objectif est de pouvoir orienter l'action de l'éleveur en identifiant l'origine infectieuse des séries d'avortements.
- **Des actions collectives à l'échelon départemental ou régional** (service collectif aux éleveurs) : les protocoles de DDA ont vocation à servir de base au développement ou à la mise en place d'actions collectives. Leur objectif est d'aider ainsi les éleveurs au travers de la promotion et de l'aide à la mise en place dans les élevages du diagnostic différentiel afin, le cas échéant, de proposer les mesures de maîtrise adaptées. Ces actions sont coordonnées par les GDS en lien avec les GTV et les LDA.
- **Le recueil et l'analyse des résultats de DDA à des fins de surveillance** (amélioration des connaissances en vue d'adapter les mesures de diagnostic, de prévention, de surveillance et de lutte) : les membres du groupe de suivi de la Plateforme ESA ont défini les modalités d'agrégation et de synthèse des DDA effectués dans les départements ou régions qui se porteront volontaires pour appliquer les protocoles standardisés. En effet, l'exploitation collective des résultats à des fins de surveillance nécessite que les conditions du diagnostic soient suffisamment harmonisées.

Remarque : l'interprétation pour l'éleveur peut prendre en compte des éléments plus fins (d'ordre notamment épidémioclinique) qui sont difficilement standardisables et qui ne figurent donc pas dans les protocoles décrits dans le présent document.

Objectifs du dispositif

Les objectifs sont les suivants :

- ✓ Évaluer les fréquences de recours au DDA (nombre de diagnostics différentiels entrepris sur nombre de séries d'avortements déclarées),
- ✓ Évaluer la proportion de diagnostics conformes au protocole défini,
- ✓ Évaluer le taux d'élucidation des DDA (nombre de diagnostics posés sur nombre de diagnostics entrepris conformes),
- ✓ Évaluer la proportion de séries d'avortements dues de façon plus ou moins certaine (niveau d'imputabilité) à un agent pathogène ou à une combinaison d'agents pathogènes pour un groupe de maladies recherchées en première intention¹ ou par maladie ou combinaison de maladies² pour d'autres maladies éventuellement recherchées, notamment en seconde intention.

Présentation des protocoles de DDA

Conception des protocoles nationaux harmonisés

- **Bovins**

Des travaux débutés pour l'espèce bovine au sein de l'UMT Maîtrise de la santé des troupeaux bovins à Oniris ont servi de base à la réflexion entamée en 2010. Ces travaux avaient été conduits avec l'ensemble des acteurs concernés (GTV, GDS, LDA, Anses) du Grand Ouest dans un premier temps. Ils ont constitué le socle d'une démarche par la suite nationale qui a conduit à proposer en 2013 des protocoles nationaux de diagnostic différentiel des avortements infectieux pour les bovins et les petits ruminants. Le travail de concertation a ensuite été porté nationalement par GDS France.

- **Petits ruminants**

Les travaux ont été engagés de manière collaborative au sein d'un groupe de travail animé par l'Institut de l'Élevage et l'ENVY au sein de l'UMT Santé des petits ruminants.

Ils s'appuient sur :

- ✓ un partenariat national : GDS France, SNGTV, Races de France, Adilva,
- ✓ un partenariat régional et départemental : FRGDS Poitou-Charentes et Midi-Pyrénées, GDS 04, GDS 12, GDS 41, GDS 64, GDS Limousin - FRGTV Midi-Pyrénées - Laboratoires d'analyses 05, 58, 64, 79,
- ✓ une expertise scientifique et technique: Anses Niort, Alfort, Sophia Antipolis et ENVY.

Les premiers arbres décisionnels finalisés en 2013 ont ensuite été appliqués sur le terrain en Midi-Pyrénées (pilotage de la FRGDS Midi-Pyrénées) permettant d'évaluer le protocole à grande échelle et de proposer des pistes d'évolution.

¹ Nombre de diagnostics mettant en évidence l'implication d'un agent pathogène donné sur le nombre de diagnostics réalisés conformes, pour un groupe donné de maladies recherchées en première intention

² Pour une maladie donnée ou une combinaison de maladies, nombre de diagnostics « positifs » sur nombre de diagnostics réalisés conformes pour cette maladie

Les principes des démarches diagnostiques chez les bovins et les petits ruminants ont été portés nationalement par la SNGTV et GDS France, et présentés lors de la journée de restitution sur les avortements organisée conjointement par ces deux organismes, le 11 janvier 2013.

Contenu des protocoles

Les protocoles harmonisés de DDA comprennent pour chaque maladie :

- ✓ Le type du ou des prélèvement(s) possible(s)
- ✓ Les animaux à prélever
- ✓ L'analyse ou les analyses possible(s)
- ✓ La grille d'interprétation des résultats

Les protocoles évolueront en tant que de besoin en fonction de l'évolution des connaissances et des outils disponibles.

Nature des maladies prises en compte en 1^{ère} et 2^{ème} intention

▪ Un pack de maladies recherchées en 1^{ère} intention

Dans les départements/régions participantes, le diagnostic sera systématiquement entrepris en première intention pour un « pack » de maladies³ :

Pour les bovins : fièvre Q, BVD, néosporose

Pour les petits ruminants : fièvre Q, toxoplasmose, chlamydirose

Pour la recherche de ces maladies de 1^{ère} intention, le **socle des prélèvements** (« minimum requis ») à réaliser est le suivant :

³ Néanmoins, en ce qui concerne ce pack de « maladies » de 1^{ère} intention, si un département ou une région dispose de données lui permettant de considérer, qu'en l'état, un agent n'est pas ou peu présent, la maladie pourra ne pas être recherchée en 1^{ère} intention. La documentation correspondante sera fournie par le département ou la région au groupe de suivi.

Par ailleurs, les départements et/ou régions volontaires pourront choisir de rechercher systématiquement des maladies pouvant être diagnostiquées en 2^{ème} intention.

Pour les bovins (« minimum requis ») :

Vache(s) ayant avorté depuis moins de 8 jours	6 vaches appartenant au lot touché par les avortements non vaccinées contre la BVD ou vaccinées avec un vaccin non marqueur *
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 tube sec par femelle ✓ 1 écouvillon endocervical par femelle (à privilégier) ou placenta ou organes de l'avorton (rate, foie, liquide stomacal) 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 tube sec par femelle

* En prélevant par ordre de priorité décroissante

- D'abord une (des) vache(s) avortée(s) depuis au moins 15 jours ;
- En complétant avec des vaches à problème de reproduction : vaches à non délivrance, à métrite notamment récurrente, à retour en chaleur ;
- Et en complétant, si nécessaire, pour au maximum 3 vaches sur 6 avec des animaux du même lot ne présentant pas de problème.

Pour les petits ruminants (« minimum requis ») :

Brebis ou chèvres(s) ayant avorté depuis moins de 8 jours	10 brebis ou chèvres appartenant au lot touché par les avortements *
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 tube sec par femelle ✓ 3 écouvillons de mucus vaginal ✓ 3 organes d'avorton (prioritairement encéphales) ou ensembles de houppes cotylédonaires obtenus sur 3 animaux différents 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 tube sec par femelle

*d'abord des femelles(s) avortée(s) depuis au moins 15 jours en complétant avec des femelles à problème de reproduction ou des femelles du même lot



Le respect de cette prescription (nombre et nature des animaux prélevés) est fondamental car il augmente fortement la probabilité de conclure.

Il s'agit d'un **minimum requis** permettant d'investiguer les maladies de première intention. **Le contenu des boîtes de prélèvements sera nécessairement plus complet** afin de tenir compte de la présence possible de plus de 3 animaux ayant avorté depuis moins de 8 jours et de **prélèvements complémentaires qu'il serait opportun de réaliser selon le contexte épidémiologique ou clinique** (entre autre pour les maladies de seconde intention).

▪ **Maladies pouvant être diagnostiquées en 2^{ème} intention**

Au-delà de ce pack de maladies de 1^{ère} intention, le dispositif collectera les résultats de tout diagnostic entrepris le cas échéant, pour les maladies pour lesquelles une grille définie et commune d'interprétation des résultats est disponible.

Les résultats seront intégrés dans le dispositif de surveillance dans la mesure où le diagnostic est conduit selon le protocole fixé.

Pour les bovins

- Avortements d'origine mycosique (notamment liés à *Aspergillus*)
- Avortements dus aux salmonelles
- Avortements dus aux *Chlamydia*
- Avortements dus à *Listeria monocytogenes*
- Avortements dus à des leptospires
- Avortements dus à *Campylobacter fetus fetus* et *fetus venerealis*
- Avortements liés à *Anaplasma marginale* (anaplasmosse)
- Avortements liés à *Anaplasma phagocytophilum* (ehrlichiose)

Pour les petits ruminants

- Avortements dus au virus de la Border Disease
- Avortements dus à des salmonelles (plus particulièrement, *Salmonella abortus ovis*)
- Avortements dus à *Listeria monocytogenes*
- Avortements d'origine mycosique (notamment liés à *Aspergillus*)

Seuils de déclenchement du protocole de DDA

Pour les bovins :

- ✓ Avortements rapprochés : **2 avortements ou plus en 30 jours ou moins**
- ✓ Avortements espacés : 3 avortements ou plus en 9 mois, quelle que soit la taille du cheptel

Pour les petits ruminants :

- ✓ Avortements rapprochés : **3 avortements ou plus en 7 jours ou moins**
- ✓ Avortements espacés : évaluation sur le lot de reproduction et sur une durée de 3 mois :
 - < 250 femelles : 4 % d'avortements
 - > 250 femelles : à partir du 10^{ème} avortement, quelle que soit la taille du lot / troupeau

Période prise en compte

La date d'inclusion de l'élevage dans le protocole est la date de la visite qui a donné lieu aux premières analyses biologiques. Tant que les investigations sont en cours pour une ou plusieurs maladies, il n'y a pas de transmission de données dans le système d'information.

La date de clôture du protocole correspond par défaut à la date de transmission du dossier dans le système d'information d'Oscar. Un délai maximal entre la date d'inclusion et la date de clôture est fixé au niveau local, avec un maximum de 6 mois (de façon à ne pas laisser des dossiers ouverts sur une trop longue période, ce qui n'a pas de sens au plan technique).

L'objectif est de pouvoir réaliser une analyse des données de façon souple sur des périodes qui pourront être ajustées localement.

Niveaux d'imputabilité pour les grilles d'interprétation des résultats

Une gradation des niveaux d'imputabilité des séries d'avortements aux différents agents a été définie par le groupe de suivi de la Plateforme ESA.

La grille harmonisée pour les petits ruminants et les bovins est la suivante :

Niveau d'imputabilité	Signification diagnostique
« Peu probable » (≈0)	On considère que l'épisode abortif n'est pas lié à l'agent étiologique recherché
« Possible » (++)	On considère qu'il est possible, mais pas de façon certaine, que l'épisode abortif soit lié à l'agent étiologique recherché. L'interprétation des résultats est à faire en fonction des autres résultats du DDA.
« Forte » (+++)	On considère que l'épisode abortif est lié à l'agent étiologique recherché
« Non conclusif »	<p>On considère que les résultats d'analyses ne permettent pas de conclure et notamment d'exclure l'imputabilité de l'épisode abortif à l'agent étiologique correspondant.</p> <p>Des investigations complémentaires sont le cas échéant à mener, en prenant en compte les résultats des premières investigations et notamment l'obtention d'un niveau d'imputabilité ++ ou +++ pour une ou plusieurs autres infections.</p> <p><i>Des exemples de résultats pouvant justifier de l'intérêt d'investigations complémentaires seront donnés à titre d'exemple dans les grilles d'interprétation du présent document.</i></p>

Ces niveaux d'imputabilité découlent « mécaniquement » de l'application des grilles d'interprétation des résultats. La grille comporte au maximum quatre niveaux d'imputabilité, mais pour un agent étiologique donné elle peut ne comporter que deux ou trois niveaux.

La détection d'un agent infectieux et son implication dans la série abortive n'excluent par l'implication concomitante d'autres agents infectieux.

Le statut « Non conforme » est réservé aux situations dans lesquelles le protocole n'a pas été suffisamment respecté pour permettre une interprétation. Dans ce cas, il sera possible, de façon facultative, de saisir le ou les motifs de non-conformité.

Enfin, une possibilité de saisie sera offerte pour, en plus de l'interprétation selon le protocole national, indiquer si l'interprétation locale est différente de l'interprétation du protocole national (pour des situations non standards rencontrées en pratique). Il sera alors envisagé

une enquête auprès des départements/régions qui ont, pour une maladie donnée, une proportion significative de dossiers pour lesquels l'interprétation diffère. L'analyse approfondie de ces cas pourrait, le cas échéant, permettre de faire évoluer le protocole.

Remarque : un certain nombre de grilles d'interprétation prennent en compte les résultats bruts des analyses en termes de Ct pour les PCR ou de ratio E/P pour les analyses ELISA. Il convient d'avoir conscience du caractère relatif de ces données liées notamment :

- ✓ à la dispersion des résultats des analyses aussi bien inter- (reproductibilité) qu'intra-laboratoires (répétabilité),
- ✓ à la diversité des kits utilisés et aux variations susceptibles d'être occasionnées par des changements de lots pour un kit donné,
- ✓ à la définition des bornes présentées dans le présent document qui sont susceptibles d'évoluer avec l'acquisition de connaissances nouvelles.

Remontées des données de DDA

La remontée de ces données repose sur la transmission par les GDS de données agrégées dans un module spécifique de la Plateforme sanitaire des GDS. Un document spécifique sera élaboré et mis à disposition des GDS.

Retour d'informations

La synthèse nationale et les synthèses départementales seront réalisées dans le cadre de la Plateforme ESA. Ces synthèses pourront ensuite être envoyées par chaque tête de réseau aux acteurs locaux. La synthèse nationale sera mise en ligne dans le Centre de ressources de la Plateforme ESA. La fréquence de ces retours d'information épidémiologiques sera annuelle.

Par ailleurs, à la demande d'acteurs locaux, des extractions ponctuelles sous forme de fichiers Excel pourront être réalisées par le GDS.

Ressources

Documents techniques : les documents techniques (fiches maladies, fiche de bonne réalisation des prélèvements, galerie photos) seront sur le site de l'Institut de l'Elevage <http://idele.fr/>

Valorisation épidémiologique : les documents issus de la valorisation épidémiologique des données seront mis en ligne dans le Centre de ressources de la Plateforme ESA www.plateforme-esa.fr

Remerciements

Remerciements à l'ensemble des personnes impliquées dans la conception des protocoles :

- acteurs terrain : GDS 04, GDS 12, GDS 41, GDS 64, GDS 70, GDS 74, GDS Corse, GDS Bretagne, GDS Limousin, FRGDS Poitou-Charentes, FRGDS Midi-Pyrénées, LDA 05, LDA 16, LDA 53, LDA 58, LDA 64, LDA 79, LDA 85, GTV 12, GTV 29, GTV 62, GTV 63, FRGTV Midi-Pyrénées, DDecPP 53, DDecPP 56,
- représentants nationaux et experts : Races de France, Institut de l'Elevage, Oniris, GDS France, SNGTV, Adilva, ENVT, Anses Niort, Anses Maisons-Alfort, Anses Sophia Antipolis, Anses Ploufragan, LNCR, INRA Nouzilly, VetAgro Sup,

ainsi qu'aux membres du groupe de suivi de cette thématique au niveau de la Plateforme ESA pour la mise en place du dispositif Oscar.

Annexe 1 : Protocole Bovins



Fièvre Q

Les modalités diagnostiques des avortements à *Coxiella burnetii* sont basées sur les recommandations effectuées dans le cadre du groupe de travail de l'Association pour la certification de la santé animale (Acersa) publiées en mai 2007. Ont également été pris en compte les travaux conduits en 2011 sous l'égide de la DGAL pour la mise en place fin 2012 d'une surveillance de la fièvre Q dans 10 départements pilotes.

Prélèvements

- ✓ Pour le diagnostic direct selon un ordre de préférence décroissant : Ecouvillon endocervical (à privilégier), placenta (cotylédons)⁴, organes de l'avorton (rate, foie), liquide stomacal de l'avorton.

Si possible prélever 2 écouvillons endocervicaux de femelles avortées depuis moins de 8 jours afin de privilégier le diagnostic direct⁵.

- ✓ Pour le diagnostic indirect : sérum de 6 vaches⁶ à problème de reproduction du lot touché par les avortements.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvement : au moins un prélèvement pour analyse directe et si on ne dispose des résultats que d'une seule PCR sur vache avortée, au moins 3 sérums de vaches du lot touché par les avortements.

Analyses

- ✓ Privilégier le recours au **diagnostic direct par PCR** :
 - PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme) ou relative (avec deux témoins dosés aux seuils⁷) pour analyser les prélèvements endocervicaux ou placentaires (éventuellement suite à une étape de dépistage par PCR qualitative (résultat : Non Détecté - ND - ou Détecté - D -)),
 - ou le cas échéant par PCR qualitative : utilisation sur organes ou liquide stomacal de l'avorton ou en dépistage de première intention (pour identifier les prélèvements détectés positifs avant recherche des positifs supérieurs au seuil de décision clinique en PCR quantitative ou relative).

Résultat de la PCR rendu de la façon suivante : « Non détecté » (c'est-à-dire absence de valeur Ct) ou « Détecté » (c'est-à-dire présence de valeur Ct) avec dans ce cas résultat < ou > seuil de 10⁴ (seuil de décision clinique). Dans ce cadre, la possibilité est laissée aux

⁴ Pour écouvillon au laboratoire : 3 cotylédons différents d'un même placenta systématiquement, dans un pot. L'interprétation de l'analyse du placenta est alors réalisée selon les critères d'analyse de mélange (seuil d'interprétation PCR à 10³).

⁵ Dans la mesure du possible il convient de privilégier la réalisation d'analyses directes par PCR sur deux vaches ayant avorté depuis moins de 8 jours. Ceci nécessite le stockage de l'écouvillon endocervical prévu pour dépistage de la brucellose. Ce prélèvement peut être réalisé en même temps que la prise de sang pour analyse sérologique (NS du 31 août 2010 DGAL/SDSPA/N2010-8252). Il est pris en charge, au même titre que la réalisation de la prise de sang et peut être utilisé pour le diagnostic d'autres maladies dans la mesure où il n'est pas utilisé pour le diagnostic de la brucellose (en cas de sérologie brucellose négative qui correspond au cas le plus fréquent).

⁶ Minimum 3 vaches appartenant au lot touché par les avortements.

⁷ Un point à la limite de détection (LD) et un point au seuil de décision clinique de 10⁴.

départements/régions participant au dispositif de choisir entre différentes modalités de conduite des analyses, par exemple :

- PCR relative (ND/D) et si détection d'ADN cible de *Coxiella burnetii* < ou > au seuil de 10⁴,
 - PCR qualitative (ND/D) puis reprise des échantillons détectés en PCR quantitative avec les 5 points de la gamme,
 - PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme).
- ✓ Diagnostic indirect : sérologie ELISA sur sérum en complément éventuel de la PCR.

Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyse PCR sur écouvillon < LD ou/et 2 PCR sans résultat « Détecté » sur organe ou liquide stomacal des avorton(s)⁸ ou ✓ 1 résultat d'analyse PCR sur écouvillon < LD <u>et</u> moins de 3 vaches séropositives⁹
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 résultat d'analyse PCR > 10⁴ bactéries sur écouvillon ou 1 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'avorton¹⁰ <u>et</u> moins de 3 vaches séropositives¹¹
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyses PCR > 10⁴ bactéries par écouvillon ou/et 2 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal des avorton(s)¹² ou ✓ 1 résultat PCR > 10⁴ bactéries par écouvillon ou/et PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'un avorton <u>et</u> 3 vaches ou plus séropositives¹³
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations

⁸ PCR - c'est-à-dire ayant une valeur < à la LD en PCR quantitative ou un résultat « Non détecté » en PCR qualitative ou relative.

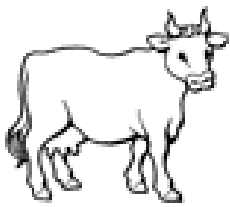
⁹ Sur un nombre de vaches prélevées compris entre 3 (minimum) et 6.

¹⁰ PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative ou relative.

¹¹ Sur un nombre de vaches prélevées compris entre 3 (minimum) et 6. Dans le cas où plus de 6 vaches ont été prélevées, la proportion de vaches séropositives doit être inférieure à 50%.

¹² PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative ou relative.

¹³ Sur un nombre de vaches prélevées compris entre 3 (minimum) et 6. Dans le cas où plus de 6 vaches ont été prélevées, la proportion de vaches séropositives doit être supérieure ou égale à 50%.



Néosporose

Prélèvements

- ✓ Sérums de 6 vaches du lot touché par les avortements.
- ✓ Pour un diagnostic direct éventuel : encéphale d'avorton.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements : au moins 3 sérums de vaches du lot touché par les avortements *sauf en cas de PCR+ sur encéphale d'avorton*.

Analyses

Privilégier le recours au **diagnostic indirect** par ELISA sur sérum des vaches du lot touché par les avortements.

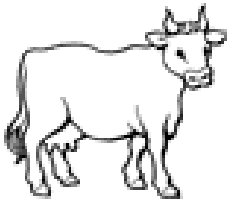
Le cas échéant pour diagnostic direct : PCR et histologie sur encéphale d'avorton.

Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ 5 vaches séronégatives sur 5 ou 6 vaches séronégatives sur 6 que les vaches aient avorté ou non
Possible (++)	✓ Au moins 3 vaches séropositives ¹⁴ (dont au moins et au maximum 1 vache avortée) ou ✓ PCR + sur encéphale d'avorton ¹⁵
Forte (+++)	✓ Au moins 3 vaches séropositives ¹⁴ (dont au moins 2 vaches ayant avorté) ou ✓ PCR + sur encéphale d'avorton <u>et</u> histologie positive
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	Toutes les autres situations <i>Exemples de situations pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none">▪ Plusieurs vaches séropositives (hors cas décrits ci-dessus) et pas d'imputabilité +++ ou ++ sur d'autres maladies

¹⁴ Sur un nombre de vaches prélevées compris entre 3 (minimum) et 6.

¹⁵ L'obtention d'une PCR + sans confirmation histologique ne permet pas de rapporter de façon certaine l'avortement à la néosporose mais témoigne de la circulation du parasite dans l'effectif et peut justifier de la mise en place de mesures de maîtrise.



BVD (diarrhée virale bovine)

Prélèvements

- ✓ Sérums de 6 vaches **non vaccinées ou vaccinées avec un vaccin non marqueur** ¹⁶ du lot touché par les avortements.

Le cas échéant, si la situation épidémiologique avant la série d'avortements est inconnue ou si elle est connue et que l'effectif était largement séropositif (ou si vaccination avec vaccin marqueur) : sérums de 6 à 10 bovins¹⁷ **âgés de 6 à 8 mois en contact avec le troupeau reproducteur concerné par la série d'avortements (dits « jeunes bovins sentinelles »)**.

- ✓ Le cas échéant pour diagnostic direct : rate de l'avorton (à privilégier) ou à défaut placenta de la vache avortée.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvement : au moins 3 sérums de vaches du lot touché par les avortements ou 6 sérums de jeunes bovins sentinelles *sauf en cas de PCR+ sur rate de l'avorton ou placenta.*

Analyses

- ✓ Privilégier le recours à l'ELISA P80 sur sérum des vaches du lot touché par les avortements (ces analyses sont inutiles si le statut épidémiologique du cheptel est connu et largement positif) ou de jeunes bovins sentinelles.
- ✓ Le cas échéant PCR sur rate de l'avorton ou placenta.

Grille d'interprétation

Attention, si la situation épidémiologique avant la série d'avortements est inconnue ou si elle est connue et que l'effectif était largement séropositif : il convient d'être très prudent et de ne pas sur-interpréter des résultats sérologiques positifs sur les vaches du lot touché par les avortements (la séroconversion des animaux pouvant être ancienne). Une conclusion ne pourra être tirée que suite à la réalisation d'analyses sérologiques complémentaires, si possible sur 6 à 10 jeunes bovins sentinelles en contact avec le troupeau reproducteur, et/ou en re-contrôlant sous 15 jours les vaches du lot touché par les avortements préalablement séronégatives.

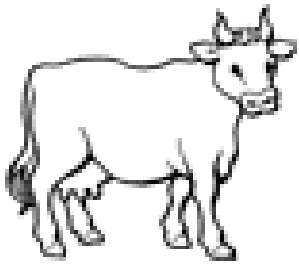
¹⁶ Minimum 3.

¹⁷ Minimum 6.

Imputabilité	Résultats	
Peu probable (≈0)	<i>Quelle que soit la situation épidémiologique du cheptel avant la série d'avortements :</i> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les vaches ayant avorté depuis au moins 15 jours sont séronégatives ou ✓ Une vache sur 6 séropositive (mais ce n'est pas une vache ayant avorté depuis au moins 15 jours) 	
Possible (++)	<i>Statut épidémiologique du cheptel connu et largement négatif</i>	✓ Au moins un tiers de vaches séropositives
	<i>Statut épidémiologique du cheptel non connu ou largement positif</i>	✓ Au moins un tiers des jeunes bovins sentinelles séropositifs ou/et observation d'une ou plusieurs séroconversions parmi les vaches du lot touché par les avortements préalablement séronégatives à J0 ¹⁸
Forte (+++)	✓ PCR + sur rate d'avorton ou placenta	
	✓ Statut épidémiologique du cheptel connu et largement négatif	✓ Au moins deux tiers des vaches séropositives
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations ¹⁹	

¹⁸ J0 = le jour de l'intervention initiale du vétérinaire sur série d'avortements.

¹⁹ Dont PCR – car la Valeur prédictive négative est insuffisante.



Avortements à salmonelles

Prélèvements

Pour diagnostic direct selon un ordre de préférence décroissant : avorton (liquide stomacal ou organes (rate, foie)), écouvillon endocervical, placenta prélevé dans l'utérus.

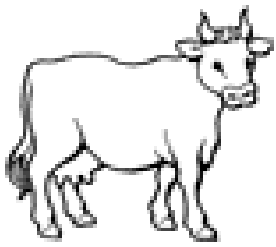
Un soin tout particulier doit être apporté pour éviter la contamination des prélèvements.

Analyses

Bactériologie et identification du sérovar.

Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Une bactériologie négative après enrichissement
Possible (++)	✓ Sérovar isolé en culture abondante et majoritaire après enrichissement
Forte (+++)	✓ Sérovar isolé en culture abondante et majoritaire sans enrichissement
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <i>Isolement parmi d'autres bactéries d'un faible nombre de colonies après enrichissement</i>



Avortements à *Listeria monocytogenes*

Prélèvements

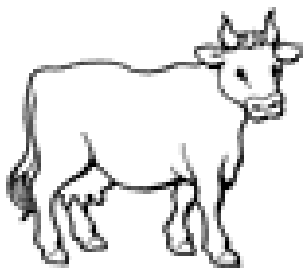
Pour diagnostic direct selon un ordre de préférence décroissant : avorton (liquide stomacal ou organes (rate, foie)), écouvillon endocervical, placenta prélevé dans l'utérus. Un soin tout particulier doit être apporté pour éviter toute contamination des prélèvements.

Analyses

Bactériologie et identification de l'espèce bactérienne.

Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Une bactériologie négative après enrichissement
Possible (++)	✓ Sérovar isolé en culture abondante et majoritaire après enrichissement
Forte (+++)	✓ Sérovar isolé en culture abondante et majoritaire sans enrichissement
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires : isolement parmi d'autres bactéries d'un faible nombre de colonies après enrichissement</i>



Avortements d'origine mycosique

Prélèvements

Cotylédons placentaires lésés prélevés dans l'utérus et/ou à défaut liquide stomacal de l'avorton.

Un soin tout particulier doit être apporté pour éviter toute contamination des prélèvements.

Analyses

Mise en culture du liquide stomacal ou des lésions placentaires.

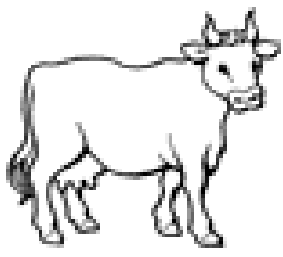
En cas de culture positive si possible histologie du placenta prélevé dans l'utérus (histologie de lésions).

Grille d'interprétation

Éléments éventuels complémentaires de nature épidémiologique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

- ✓ Existence d'aliments moisissus dans l'exploitation,
- ✓ Lésions sur le placenta ou/et l'avorton (si avorton frais).

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Culture négative
Possible (++)	✓ Culture positive sans histologie <u>et</u> tous les autres résultats pour les autres pathogènes négatifs
Forte (+++)	✓ Culture et histologie positive <u>et</u> absence d'autres pathogènes détectés
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <i>Culture positive sans histologie</i>



Chlamydiose

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct écouvillon endocervical, placenta prélevé dans l'utérus, liquide stomacal de l'avorton.
- ✓ Pour un éventuel diagnostic indirect : sérum de 6 vaches du lot touché par les avortements.

Analyses

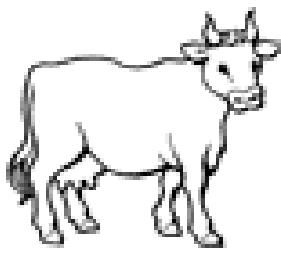
PCR-TR *Chlamydia spp* avec rendu du Ct.

Grille d'interprétation

Eléments éventuels complémentaires de nature épidémiologique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

- ✓ Proximité de troupeaux ovins ou caprins,
- ✓ Troubles type ORL chez les veaux.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Ct > 35
Possible (++)	✓ Ct < 30
Forte (+++)	✓ Ct < 30 <u>et</u> identification de <i>C.abortus</i> ou <i>C.pecorum</i> <u>et</u> au moins 4 sérologies positives
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires : Ct entre 30 et 35</i>



Avortements à leptospires

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct : placenta prélevé dans l'utérus, liquide stomacal de l'avorton, écouvillon endocervical.
- ✓ Pour diagnostic indirect :
 - Pour cinétique par technique de Micro-agglutination MAT : sérum de la vache avortée,
 - Le cas échéant utilisation du sérum des 6 vaches²⁰ du lot touché par les avortements.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements : au moins un prélèvement de sérum sur la vache avortée pour analyse sérologique par technique MAT deux à trois semaines après l'avortement (= prise de sang j14-21) sachant que j0 est le jour du prélèvement au moment de l'avortement.

Analyses

- ✓ Diagnostic direct : PCR *Leptospira Spp.*
- ✓ Diagnostic indirect : Analyse sérologique par technique de Microagglutination (MAT) permettant notamment l'identification des sérogroupes hardjo, australis, grippotyphosa, ballum²¹.

Grille d'interprétation

Eléments éventuels complémentaires de nature épidémiologique-clinique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

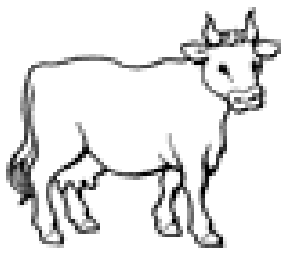
- ✓ Pâturage en zone de marais, existence de résurgence d'égouts, abreuvement dans des mares. Potentiellement décalé dans le temps par rapport aux avortements.
- ✓ Existence de lésions cutanées (érythème, photosensibilisation, hématurie) chez certains animaux du lot.
- ✓ Présence de rongeurs.

²⁰ Minimum 3 vaches.

²¹ Il existe une sérologie ELISA ciblée *L.Hardjo* qui semble avoir des réactions croisées avec d'autres sérovars. Il apparaît donc que cette technique ne permet pas d'identification formelle de sérovar. Cette technique apparaît donc techniquement moins intéressante que la MAT qui permet en cas de positivité d'identifier le sérovar en cause et d'adapter les conseils à l'éleveur.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sérologie MAT deux à trois semaines après l'avortement (J14-21) : vache avortée séronégative et toutes les vaches du lot touché par les avortements séronégatives, ou ✓ Vache avortée séronégative avec cinétique MAT à J0 puis J14-21 (sans réalisation d'analyse sérologique MAT à J14-21 sur les vaches du lot touché par les avortements)
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sérologie MAT à J14-21 sur la vache avortée : titre ≥ 800
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cinétique MAT sur la vache avortée : titre J0 à J14-21 croissant et titre J14-21 $\geq 1/800$, ou ✓ PCR <i>Leptospira Spp.</i> positive
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR <i>Leptospira Spp.</i> Négative <p><i>Exemples de situations pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cinétique MAT sur la vache avortée : titre J0²² à J14-21 stable et titre à J14-21 $< 1/800$ • Sérologie MAT à J14-21 sur la vache avortée : titre < 800 • Sérologie MAT à J14-21 : vache avortée séronégative et au moins une détection sur une des vaches du lot touché par les avortements <p>Les trois situations ci-dessus sont le signe d'un contact avec des leptospires. En cas de sérovar pathogène, si de nouveaux avortements ont lieu, il convient de prendre en compte cette information, notamment s'il n'y a pas d'imputabilité +++ ou ++ pour d'autres maladies</p>

²² J0 est le jour du prélèvement de la vache avortée.



Avortements à *Campylobacter fetus fetus* et *Campylobacter fetus venerealis*

Prélèvements

Pour diagnostic direct : écouvillon endocervical.

Analyses

PCR multi-agents²³.

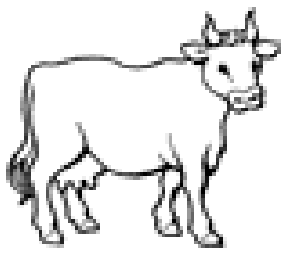
Grille d'interprétation

Éléments éventuels complémentaires de nature épidémioclinique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

- ✓ Recours à la monte naturelle,
- ✓ Achat récent de taureau (le cas échéant le signaler).

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Ct > 40
Forte (+++)	✓ Ct < 35
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ 35 < Ct < 40

²³ PCR SAR anciennement LSI *Coxiella burnetii*, *Chlamydophila abortus*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *BHV 4*, *Campylobacter fetus fetus* et *veneralis*, *Leptospira* spp [disponibilité à vérifier]. La PCR multi-agents est qualitative, il conviendra de confirmer un signal PCR *C.burnetii* + par une PCR au moins semi-quantitative. Il apparaît que cette PCR est prévue pour accueillir si besoin dans un puit le matériel de l'Anses et permettre la quantification.



Avortements à *Anaplasma marginale* (Anaplasmosse)²⁴

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct : Prise de sang sur tube EDTA²⁵ de la ou des vaches avortées le plus près possible de l'avortement, au maximum 8 jours après l'avortement.
- ✓ Pour diagnostic indirect : prise de sang sur tube sec sur vache avortée.

Analyses

- ✓ PCR spécifique *Anaplasma marginale*.
- ✓ Cinétique ELISA sur vache avortée ²⁶.

Grille d'interprétation

Éléments éventuels complémentaires de nature épidémioclinique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

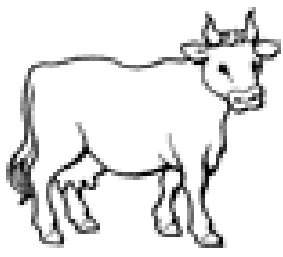
- ✓ Hyperthermie chez la ou les vaches avortées,
- ✓ Animaux anémiés,
- ✓ Apparition d'animaux malades de manière cyclique,
- ✓ Biotopes et saison favorables aux vecteurs.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none">✓ PCR <i>Anaplasma marginale</i> négative et vache avortée séronégative à J0 et J14-21 après l'avortement ou✓ Vache avortée séronégative à J0 et J14-21 après l'avortement
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none">✓ PCR négative et séroconversion d'une vache avortée entre J0 et J14-j21
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none">✓ PCR <i>Anaplasma marginale</i> positive
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none">✓ Tous les autres cas <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none">○ <i>Sérologie positive sur vache avortée 14 à 21 jours après l'avortement sans mise en évidence de séroconversion entre J0 et J 14-21</i>

²⁴ Pour une interprétation optimale des résultats, il est recommandé d'entreprendre ce type d'analyse lorsqu'un ou plusieurs facteurs épidémiologiques sont constatés : saison, mise en pâture dans des biotopes favorables aux tiques. Les facteurs de risque de l'anaplasmosse et de l'ehrlichiose étant très similaires, il est probable qu'en cas de suspicion le diagnostic devra comprendre la recherche des deux agents.

²⁵ A privilégier.

²⁶ Réactions croisées avec *Anaplasma phagocytophilum*.



Avortements à *Anaplasma phagocytophilum* (ehrlichiose)

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct :
 - Prise de sang sur tube EDTA²⁷ de la ou des vaches avortées le plus près possible de l'avortement, au maximum 8 jours après l'avortement (PCR spécifique *Anaplasma phagocytophilum*),
 - Ecouvillon endocervical, placenta de la ou des vaches avortées (PCR multi-agents),
- ✓ Pour diagnostic indirect : prise de sang sur tube sec sur vache avortée (le cas échéant en cas de suspicion forte d'ehrlichiose : prise de sang sur tube sec des vaches à problème de reproduction du lot touché par les avortements).

Analyses

- ✓ PCR spécifique *Anaplasma phagocytophilum* ou PCR multi-agents incluant la recherche d'*Anaplasma phagocytophilum*.
- ✓ Cinétique sur vache avortée par technique d'Immunofluorescence indirecte (IFI)²⁸ (le cas échéant en cas de suspicion forte d'ehrlichiose : cinétique sur les vaches à problème de reproduction du lot touché par les avortements).

Grille d'interprétation

Éléments éventuels complémentaires de nature épidémiologique pour la mise en œuvre d'un diagnostic :

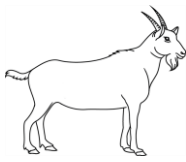
- ✓ Hyperthermie chez la ou les vaches avortées,
- ✓ Mise en pâture dans des biotopes favorables au développement de tiques,
- ✓ Biotopes et saison favorables aux vecteurs,
- ✓ Œdème des paturons (non systématique mais très caractéristique).

²⁷ A privilégier par rapport au tube sec.

²⁸ Réactions croisées avec *Anaplasma marginale*.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ PCR <i>Anaplasma phagocytophilum</i> négative et/ou vache avortée séronégative à J0 et j14-21 après l'avortement
Possible (++)	✓ PCR négative et au moins une vache à problème de reproduction du lot touché par les avortements séronégative à J0 et positive j14-21 après l'avortement
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR <i>Anaplasma phagocytophilum</i> positive, ou ✓ PCR négative et séroconversion d'une vache avortée entre J0 et J14-21
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tous les autres cas <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Sérologie positive sur vache avortée 14 à 21 jours après l'avortement sans mise en évidence de séroconversion entre J0 et J 14-21</i>

Annexe 2 : Protocole Petits Ruminants



Fièvre Q

Prélèvements

- ✓ Pour le diagnostic direct selon un ordre de préférence décroissant : Écouvillon de mucus vaginal (**à privilégier**), placenta (cotylédons)²⁹, organes de l'avorton (rate, foie), liquide stomacal de l'avorton. On recommande très fortement de prélever, à des fins de diagnostic direct, un maximum de femelles ayant avorté : réalisation de 2 à 6 écouvillons de mucus vaginal de femelles ayant avorté depuis moins de 8 jours.
- ✓ Pour le diagnostic indirect : sérum de 10 femelles³⁰ ayant avorté ou à problème de reproduction du lot touché par les avortements³¹.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements: au moins un prélèvement pour analyse directe et si on ne dispose des résultats que d'une seule PCR sur femelle(s) avortée(s), au moins 5 sérums de femelles du lot touché par les avortements.

Analyses

- ✓ **Privilégier le recours au diagnostic direct** par PCR :
 - PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme) ou relative (avec deux témoins dosés³²) pour analyser les prélèvements endocervicaux ou placentaires (éventuellement suite à une étape de dépistage par PCR qualitative), ou
 - le cas échéant par PCR qualitative : utilisation sur organes ou liquide stomacal de l'avorton ou en dépistage de première intention pour identifier les prélèvements détectés positifs avant recherche des positifs supérieurs au seuil de décision clinique³³ en PCR quantitative ou relative.

Il est hautement souhaitable que les méthodes PCR quantitative ou relative utilisées aient été validées selon les critères du LNR fièvre Q³⁴ et que les analyses soient réalisées par des laboratoires participant aux EILA organisés par le LNR. Ce message sera porté fortement par les structures nationales concernées (Adilva, GDS France et SNGTV) auprès des acteurs dans les départements/régions qui participeront au dispositif.

Résultat de la PCR rendu dans le cadre de la surveillance des avortements de la façon suivante : « Non détecté » (c'est-à-dire absence de valeur Ct) ou « Détecté » (c'est-à-dire présence de valeur Ct) avec dans ce cas résultat < ou > seuil de décision clinique (ce seuil est de 10⁴ en analyse individuelle et de 10³ en analyse de mélange).

Dans ce cadre, possibilité pour les départements/régions participant au dispositif de choisir entre différentes modalités de conduite des analyses, par exemple :

²⁹ Pour écouvillon au laboratoire, de préférence de 3 cotylédons différents (les plus nécrosés ou grisâtres) pour un placenta.

³⁰ Minimum 5.

³¹ On recommande fortement de prélever les animaux suivants par ordre décroissant de choix : d'abord des femelles(s) avortée(s) depuis au moins 15 jour en complétant avec des femelles à problème de reproduction.

³² Un point à la limite de détection (LD) et un point au seuil de décision clinique de 10⁴ en analyse individuelle ou 10³ en analyse de mélange.

³³ 10⁴ en analyse individuelle et 10³ en analyse de mélange.

³⁴ Cela signifie que le dossier de validation a été examiné et attesté par le LNR.

- PCR relative avec ND/D et si détection d'ADN cible de *Coxiella burnetii* < ou > au seuil de 10^4 ou 10^3 ,
 - PCR qualitative (ND/D) puis reprise des échantillons détectés en PCR quantitative avec les 5 points de la gamme,
 - PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme).
- ✓ Diagnostic indirect : sérologie ELISA en complément éventuel de la PCR ; suivant le protocole de l'Acersa.

Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyse PCR sur écouvillon < LD ou/et 2 PCR sans résultat Détecté sur organe ou liquide stomacal des avorton(s)³⁵, ou ✓ 1 résultat d'analyse PCR < LD <u>et</u> moins de 5 femelles séropositives³⁶
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 résultat d'analyse PCR > 10^4 bactéries par écouvillon en analyse individuelle (> 10^3 en analyse de mélange) ou 1 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'avorton³⁷ <u>et</u> moins de 5 femelles du lot touché par les avortements séropositives³⁸
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyses PCR > 10^4 bactéries par écouvillon en analyse individuelle (> 10^3 en analyse de mélange) ou/et 2 PCR avec détection d'ADN cible sur organe des avorton(s)³⁹, ou ✓ 1 résultat PCR > 10^4 bactéries par écouvillon en analyse individuelle (>10^3 en analyse de mélange) ou/et PCR avec détection d'ADN cible sur organe d'un avorton <u>et</u> 5 femelles ou plus séropositives⁴⁰
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations

³⁵ PCR - c'est-à-dire ayant une valeur < à la LD en PCR quantitative ou relative ou un résultat « Non détecté » en PCR qualitative.

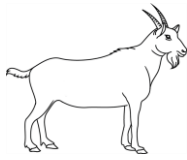
³⁶ Sur un nombre de femelles prélevées compris entre 5 (minimum) et 10.

³⁷ PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou relative, ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative.

³⁸ Sur un nombre de femelles prélevées compris entre 5 (minimum) et 10. Dans le cas où plus de 10 femelles ont été prélevées, la proportion de femelles séropositives doit être inférieure à 50%.

³⁹ PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou relative, ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative.

⁴⁰ Sur un nombre de femelles prélevées compris entre 5 (minimum) et 10. Dans le cas où plus de 10 femelles ont été prélevées, la proportion de femelles séropositives doit être supérieure ou égale à 50%.



1^{ère} intention

Chlamydie

Prélèvements

- ✓ Pour le diagnostic direct : écouvillon de mucus vaginal, placenta, organes d'avorton (mucus vaginal facile à obtenir mais nécessite une approche semi-quantitative pour parvenir à une imputation).
- ✓ Pour le diagnostic indirect : sérums de 5 brebis ou chèvres du lot touché par les avortements.

Critères de conformité pour le nombre de prélèvements: au moins trois prélèvements pour analyse directe *sauf si 2 PCR+* (se référer aux seuils de positivité en fonction de la matrice employée).

Analyses

3 PCR individuelles et si possible 5 analyses sérologiques, voire une cinétique sérologique associée.

Grille d'interprétation

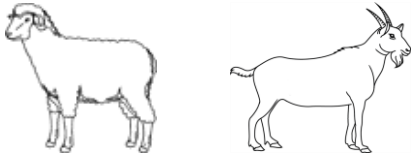
Les observations de terrain montrent qu'une interprétation semi-quantitative des sérologies (prise en compte des forts séropositifs) semble possible y compris en contexte de vaccination. La grille d'interprétation ci-dessous reste donc utilisable en contexte vaccinal.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ni PCR, ni analyses sérologiques positives ✓ 3 PCR négatives sans analyse sérologique réalisée ✓ 0 PCR + et une ou plusieurs femelles faiblement séropositives à J0 (le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive). ✓ 0 PCR + et une seule femelle séropositive fortement** à J0. ✓ 0 PCR + et 1 seule augmentation significative*** des ratios E/P sans forte séropositivité ✓ 1 PCR + * et quelques femelles faiblement séropositives (dans ce cas, un des avortements est imputé à <i>Chlamydia</i> mais la série abortive, en revanche, n'est que peu probablement imputable à cet agent)
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 PCR +* et une augmentation significative du ratio E/P*** et/ou une ou plusieurs femelles séropositives fortement** à J0 le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ ≥ 2 PCR + * ✓ 1 PCR + et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentation significative des ratios E/P ***
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 0 PCR + <u>et</u> 1 seule augmentation significative*** du ratio E/P <u>et</u> une ou plusieurs femelles séropositives fortement** le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive (résultats à conforter par d'autres analyses) 2) 0 PCR + <u>et</u> une majorité de femelles présente une augmentation significative*** des ratios E/P sur 2-3 semaines

* Sur mucus vaginal, l'interprétation des PCR se fera au regard des Ct (malgré les réserves émises sur leur interprétation possible et un manque de reproductibilité): < 30 : positive, 30 < <35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue. L'objectif est en effet de limiter le nombre de situations où *Chlamydia* pourrait être incriminée à tort.

** Séropositif fortement = A ce jour, un animal est considéré comme séropositif fortement dès lors qu'il est considéré comme tel grâce à la grille fournie par le fabricant.

*** A l'heure actuelle sur le terrain, une augmentation « significative » du ratio E/P est considérée comme une augmentation supérieure ou égale à 30 %. Cette valeur pourra être revue en fonction des observations et des études en cours ou à venir.



Toxoplasmose

Prélèvements

- ✓ Pour le diagnostic direct : encéphales à privilégier. Possible sur placenta. Ne pas réaliser d'analyse sur le foie qui n'est pas un prélèvement approprié pour la recherche de la toxoplasmose.
- ✓ Pour le diagnostic indirect : sérum de 5 brebis ou chèvres du lot touché par les avortements.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements : 1 prélèvement pour diagnostic direct et au moins 5 sérums de femelles du lot touché par les avortements *sauf en cas de PCR de mélange +*.

Analyses

1 PCR de mélange (mélanges de 3 organes maximum, en privilégiant le mélange d'encéphales) + 5 analyses sérologiques et forte recommandation de cinétique associée (la répartition hétérogène du parasite dans les tissus peut être à l'origine de résultats négatifs en PCR. L'association des sérologies permet alors de compléter l'analyse de diagnostic direct).

Grille d'interprétation

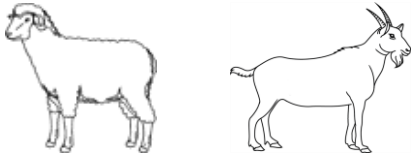
- ✓ Une PCR négative ne permet pas d'exclure l'imputation de *T. gondii*.
- ✓ Le délai entre l'infestation et l'expulsion du fœtus, peut expliquer que les ratios E/P soient élevés au moment de l'avortement. De ce fait, l'analyse des ratios E/P comme de la cinétique en anticorps constituent des éléments déterminants pour orienter le diagnostic.
- ✓ En contexte de vaccination, compte tenu de la durée d'immunité élevée, une interprétation semi-quantitative des sérologies est délicate particulièrement si le protocole vaccinal a été mis en œuvre dans les mois précédents (cas le plus souvent des primipares). Un seuil spécifique supérieur au seuil actuel proposé par le fabricant demanderait à être établi et validé : grille d'interprétation propre à définir.
- ✓ Éléments cliniques complémentaires : présence de fœtus momifié(s) (non pathognomonique), présence de points blancs calcifiés sur le placenta (le plus souvent considéré comme pathognomonique mais peu rapporté sur le terrain).

Imputabilité	Résultats (hors contexte de vaccination)
Peu probable (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR négative et une ou plusieurs femelles faiblement séropositives à J0 (le jour de l'intervention de l'intervention du vétérinaire pour série abortive) et pas d'augmentations ratio E/P ✓ Ni PCR, ni analyses sérologiques positives (exclusion), ni augmentation de ratio E/P (si une cinétique est réalisée)
Possible (++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR négative et ≥ 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements ✓ PCR négative et plusieurs femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements et 1 augmentation significative du ratio E/P
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR positive ✓ PCR négative et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentations significatives des ratios E/P***
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations⁴¹ <p><i>Exemples de situations pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ PCR négative, moins de 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements <u>et</u> pas d'augmentations de ratio E/P ○ PCR négative <u>et</u> au maximum 1 femelle fortement séropositive (+/- quelques animaux faiblement séropositifs) <u>et</u> 1 augmentation significative du ratio E/P

** Séropositif fortement = A ce jour, un animal est considéré comme séropositif fortement dès lors qu'il est considéré comme tel grâce à la grille fournie par le fabricant.

*** A l'heure actuelle sur le terrain, une augmentation « significative » du ratio E/P est considérée comme une augmentation supérieure ou égale à 30 %. Cette valeur pourra être revue en fonction des observations et des études en cours ou à venir.

⁴¹ Dont PCR seule négative (valeur prédictive négative insuffisante).



Border disease

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct : 3 avortons ou houppes placentaires de 3 femelles avortées ou en cas de présence de nouveau-nés bourrus ou hirsutes, sang de nouveau-nés chétifs ou malades (maximum 10) de préférence⁴² sur tube EDTA.
- ✓ Pour diagnostic indirect : 10 animaux sentinelles (c'est-à-dire appartenant à la plus jeune classe d'âge possible mais âgés de plus de 6 mois, non vaccinés et au contact des femelles ayant avorté).

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements :

- Au moins 1 avorton et/ou ensemble de houppes placentaires provenant de 3 femelles avortées ou au moins 6 prises de sang de nouveau-nés chétifs ou malades,
- Et au moins 6 animaux sentinelles *sauf lorsque les animaux sentinelles ne sont pas nécessaires pour interpréter les résultats.*

Analyses

- ✓ 1 PCR en mélange (analyse en mélange sur le sang de maximum 10 animaux chétifs ou malades ou analyse sur 3 organes de type : rate / encéphale / foie ou 3 houppes placentaires de femelles avortées).
- ✓ + analyses sérologiques sur 6 à 10 animaux sentinelles (ou à défaut sur les femelles ayant avorté ou du lot ayant avorté si statut du troupeau connu et négatif). Animaux sentinelles : plus jeune classe d'âge possible mais de plus de 6 mois, non vaccinés à l'aide d'un vaccin marqueur, au contact des femelles ayant avorté.

Grille d'interprétation

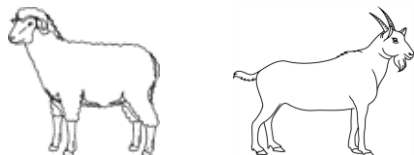
Une PCR négative ne permet pas d'exclure la responsabilité de la BDV dans l'épisode abortif.

Contexte épidémiologique et clinique à prendre en compte : présence de jeunes chétifs, bourrus, hirsutes, etc. et de maladies intercurrentes.

⁴² Il est préférable de faire la recherche sur tube EDTA (virus dans les globules blancs). Néanmoins dans ce contexte, pour la recherche d'IPI, compte tenu de la charge virale, il est admissible d'utiliser des tubes secs qui sont en revanche à proscrire pour la recherche d'infection transitoire.

Imputabilité	Résultats	
Peu probable (≈0)	✓ PCR négative <u>et</u> toutes les sérologies négatives sur les sentinelles (exclusion)	
Possible (++)	Statut épidémiologique connu et négatif	✓ PCR négative <u>et</u> parmi les animaux sentinelles : 2 à 4 sérologies positives
	Statut épidémiologique non connu ou positif	✓ PCR négative <u>et</u> 50 % ou plus de sérologies positives parmi les animaux sentinelles ✓ PCR négative <u>et</u> une ou plusieurs séroconversions sur des femelles initialement séronégatives (attention : la durée de la séroconversion peut être de 30 jours après l'infection)
Forte (+++)	✓ PCR positive	
	Statut épidémiologique connu et négatif	✓ PCR négative <u>et</u> parmi les animaux sentinelles : 50 % ou plus de sérologies positives
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Tous les autres cas <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ PCR négative <u>et</u> quelques analyses sérologiques positives à interpréter en fonction du contexte épidémiologique et du choix des animaux prélevés (cas notamment d'animaux non rigoureusement sentinelles⁴³) 	

⁴³ C'est-à-dire d'animaux non en contact avec le lot ayant avorté ou/et d'âge inadéquat (moins de 6 mois - risque de faux positifs lié aux anticorps colostraux - et plus de 12 mois - problème pour dater la circulation).



Avortements à salmonelles (*Salmonella abortus ovis* plus particulièrement)

Prélèvements

- ✓ Pour diagnostic direct : liquide stomacal ou organes d'avorton (rate, foie), écouvillon de mucus vaginal*, placenta.
- ✓ Le cas échéant, pour diagnostic indirect de la salmonellose à *Salmonella abortus ovis* : 5 sérums sur femelles venant d'avorter.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements : 2 prélèvements pour diagnostic direct *sauf si une bactériologie ou une PCR est positive*.

Analyses

- ✓ 2 analyses bactériologiques ou 2 analyses PCR et si possible
- ✓ 5 analyses en séro-agglutination sur femelles venant d'avorter pour le diagnostic de la salmonellose à *Salmonella abortus ovis*.

Grille d'interprétation

Contexte épidémiologique et clinique à prendre en compte : mortalité / morbidité chez les mères, moment de l'avortement par rapport au terme, diarrhées, etc.

Typage à réaliser si besoin (notamment zone lait cru).

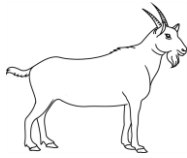
Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> résultats sérologiques négatifs ou faiblement positifs
Possible (++)	✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 1/5 résultats sérologiques > 1/1280 et au moins un résultat/5> à 640
Forte (+++)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 ou 2 bactériologies positives (analyse recommandée⁴⁴) ✓ 1 ou 2 PCR positives^{**} ✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 2/5 résultats sérologiques > 1/1280
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations

* Les résultats de PCR sur écouvillon vaginal restent peu référencés malgré une utilisation plus constante au cours de ces dernières années. Il convient donc d'être prudent sur leur interprétation et de disposer si possible d'autres éléments en faveur, en plus d'une analyse critique des Ct (voir ci-dessous).

** Sur mucus vaginal⁴⁵, l'interprétation des PCR se fera si possible au regard des Ct (malgré les réserves émises sur leur interprétation possible et un manque de reproductibilité): < 30 : positive, 30 < <35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue.

⁴⁴ La bactériologie permet d'identifier le sérovar en cause et d'adapter le traitement antibiotique, sachant que souvent les souches en cause sont résistantes et peuvent nécessiter le recours à un antibiotique critique.

⁴⁵ Peu de références acquises sur mucus vaginal mais des premiers résultats prometteurs.



Avortements à *Listeria*

Inclure *Listeria monocytogenes* et *Listeria ivanovii*.

Prélèvements

Pour diagnostic direct : liquide stomacal, organes d'avorton, écouvillon de mucus vaginal, houppes placentaires. Veiller à la conservation des prélèvements à 4°C ou congelés.

Critères de conformité en ce qui concerne le nombre de prélèvements : 2 prélèvements pour diagnostic direct *sauf si une bactériologie est positive*.

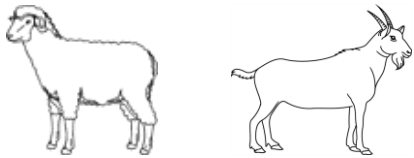
Analyses

2 analyses bactériologiques. Bactériologie orientée (attention : culture longue). Milieu spécifique.

Grille d'interprétation

Contexte à prendre en compte : alimentation (nature / équilibre), clinique éventuelle ; foyers nécrotiques sur le foie

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Bactériologies négatives après enrichissement
Possible (++)	✓ <i>Listeria monocytogenes</i> ou <i>L. ivanovii</i> isolée en culture abondante et majoritaire après enrichissement
Forte (+++)	✓ 1 ou 2 bactériologies positives en culture abondante et majoritaire sans enrichissement
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none">○ Isolement parmi d'autres bactéries d'un faible nombre de colonies de <i>Listeria monocytogenes</i> ou <i>L. ivanovii</i> après enrichissement



Agents mycosiques

Prélèvements

Houppes placentaires, liquide stomacal.

Analyses

Mise en culture, histologie sur zones placentaires présentant des lésions.

Grille d'interprétation :

Contexte épidémiologique et clinique à prendre en compte, présence d'aliments moisissus dans l'exploitation ou l'environnement, placenta épais, parcheminé.

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0)	✓ Culture négative
Possible (++)	✓ Culture positive sans histologie et tous les autres résultats négatifs
Forte (+++)	✓ Culture positive et histologie positive et absence d'autres pathogènes détectés
Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ Culture positive sans histologie

Remarque générale : il pourrait être intéressant pour les laboratoires qui le peuvent de stocker un certain nombre de prélèvements correspondant à des profils donnés à des fins de recherche. Une réflexion sera conduite ultérieurement à ce sujet.