



# Diagnostic différentiel des avortements

## Protocole petits Ruminants



# Présentation du protocole de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants

---

## Historique

Les premiers travaux sur le diagnostic différentiel des avortements ont été engagés de manière collaborative au sein d'un groupe de travail animé par l'Institut de l'Élevage et l'ENVT au sein de l'UMT Pilotage de la Santé des Ruminants (anciennement UMT maîtrise de la Santé des troupeaux de Petits Ruminants).

Ils s'appuient sur :

- ▶ un partenariat national : GDS France, SNGTV, Races de France, Adilva,
- ▶ un partenariat régional et départemental : FRGDS Nouvelle Aquitaine et Occitanie, GDS 04, GDS 12, GDS 41, GDS 64, GDS Limousin - FRGTV Occitanie - Laboratoires d'analyses 05, 58, 64, 79,
- ▶ une expertise scientifique et technique: Anses Niort, Alfort, Sophia Antipolis et ENVT.

Les arbres décisionnels définis 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. Ce sont les réflexions issues de ces travaux et complétées par les retours d'expériences des autres régions qui permettent de proposer le présent protocole de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants. Ce protocole est susceptible d'évolution pour tenir compte de l'évolution des connaissances et de manière à intégrer d'autres étiologies abortives.

## Contenu du protocole

Le protocole harmonisé de Diagnostic Différentiel des Avortements (DDA) comprend 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.

## Nature des maladies prises en compte en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> intention

### ▪ Maladies recherchées en 1<sup>ère</sup> intention

Trois maladies principales ont été identifiées comme étant à rechercher prioritairement lors d'épisode abortif chez les petits ruminants. Il s'agit de la fièvre Q, de la chlamydiose et de la toxoplasmose.

### ▪ Maladies pouvant être diagnostiquées en 2<sup>ème</sup> intention

A ce socle commun peuvent être rajoutées selon le contexte épidémiologique et clinique :

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

Remarque 1 : les maladies pouvant occasionner des avortements et classées « Dangers sanitaires de 1ère catégorie » selon l'arrêté du 29 Juillet 2013<sup>1</sup> ne rentrent pas dans le cadre de ce protocole. Il s'agit notamment de la brucellose, à recherche obligatoire lors d'avortement(s), ou encore de la fièvre catarrhale ovine (FCO). En effet, pour ces maladies, le schéma de remontée des suspicions déclenche une notification obligatoire à l'autorité compétente définie réglementairement.

Remarque 2 : La transmission transplacentaire du virus Schmallerberg peut, à certains stades de la gestation, entraîner des malformations congénitales caractéristiques<sup>2</sup> chez les ruminants. Le tableau clinique étant fortement évocateur (et donc la réalisation d'analyses de laboratoire étant facultative), il a été décidé de ne pas inclure cette maladie à rechercher dans le protocole de diagnostic différentiel des avortements.

## Seuils de déclenchement du protocole de DDA

Ce protocole peut être déclenché :

- soit lors d'avortements rapprochés : 3 avortements ou plus en 7 jours ou moins,
- soit lors d'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 10ème avortement, quelle que soit la taille du lot / troupeau.

## 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 comme pour les bovins est la suivante :

Niveau d'imputabilité	Signification diagnostique
« <b>Peu probable</b> » (≈0)	On considère que l'épisode abortif n'est pas lié à l'agent étiologique recherché
« <b>Possible</b> » (++)	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.
« <b>Forte</b> » (+++)	On considère que l'épisode abortif est lié à l'agent étiologique recherché
« <b>Non conclusif</b> »	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.

<sup>1</sup> Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales

<sup>2</sup> Déformation ou blocage de l'articulation d'un ou plusieurs membres (arthrogrypose), malformation de la colonne vertébrale (scoliose, cyphose), anomalie du port de la tête (torticolis), raccourcissement de la mâchoire inférieure (brachygnathie), « Grosse tête » (hydrocéphalie), absence d'hémisphères cérébraux (hydranencéphalie)

Niveau d'imputabilité	Signification diagnostique
	<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>

Les grilles d'interprétation sont sujettes à évolution en fonction des résultats qui seront issus des travaux (expérimentations ou retours du terrain) en cours ou à venir.

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

## Valorisation des résultats de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants

---

L'Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants (OSCAR) est un dispositif qui vise à recueillir et valoriser les résultats de diagnostic différentiel des causes infectieuses d'avortements entrepris selon une démarche nationale harmonisée. Sa finalité est d'améliorer les connaissances des causes infectieuses des avortements, pour orienter au mieux la prévention et la lutte contre celles-ci.

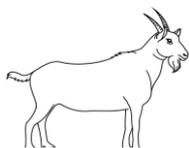
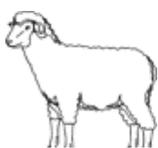
Après concertation locale et validation par l'ensemble des acteurs concernés par le dispositif (vétérinaires, GDS et laboratoires d'analyses), un département ou une région peut demander à s'engager dans le dispositif OSCAR. Dans ce cas, les acteurs locaux s'engagent à appliquer les points considérés comme indispensables pour le bon fonctionnement du dispositif (recherche obligatoire des maladies de 1ère intention, respect des types de prélèvements et analyses indiqués dans le protocole pour chaque maladie, remontée des données...).

Le dispositif OSCAR est proposé depuis 2017 dans les départements et/ou régions volontaires. En 2019, 26 départements étaient engagés dans le dispositif Oscar pour une ou plusieurs espèces de ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins).



# Protocole de diagnostic différentiel des avortements des petits ruminants

## Maladies de 1<sup>ère</sup> intention



## Fièvre Q

Les modalités diagnostiques des avortements à *Coxiella burnetii* sont fondées 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 : Écouvillon de mucus vaginal (**à privilégier**), placenta (cotylédons)<sup>3</sup>, 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<sup>4</sup>.

- Pour le diagnostic indirect : sérum de 10 femelles<sup>5</sup> du lot touché par les avortements en privilégiant celles ayant avorté ou présentant un problème de reproduction (vides, métrites).

### Analyses

- Privilégier le recours au diagnostic direct par PCR :
  - PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme donc 6 témoins dosés) ou relative (avec deux témoins dosés aux seuils<sup>6</sup>) pour analyser les prélèvements endocervicaux ou placentaires (éventuellement suite à une étape de dépistage par PCR qualitative),
  - Ou, le cas échéant, PCR qualitative : soit utilisation sur organes ou liquide stomacal de l'avorton soit en dépistage de première intention pour identifier les prélèvements détectés positifs avant recherche des positifs supérieurs au seuil de décision clinique<sup>7</sup> 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 Q<sup>8</sup> et que les analyses soient réalisées par des laboratoires participant aux EILA organisés par le LNR sur ces méthodes.

---

<sup>3</sup> Pour écouvillon au laboratoire, de préférence, prélèvement de 3 cotylédons différents (les plus nécrosés ou grisâtres) pour un même placenta. L'interprétation de l'analyse du placenta est alors réalisée selon les critères définis pour une analyse de mélange (seuil d'interprétation PCR à 10<sup>3</sup>).

<sup>4</sup> Si besoin, on peut valoriser les écouvillons prévus pour le 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 ne l'est pas pour le diagnostic de la brucellose (cas de sérologie négative qui est le cas le plus fréquent)

<sup>5</sup> Minimum 5.

<sup>6</sup> Un point ADN à la limite de détection (LD) et un point bactérien au seuil de décision clinique de 10<sup>4</sup> en analyse individuelle ou 10<sup>3</sup> en analyse de mélange.

<sup>7</sup> 10<sup>4</sup> en analyse individuelle et 10<sup>3</sup> en analyse de mélange.

<sup>8</sup> Inventaire méthodes PCR : [http://idele.fr/no\\_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/methodes-pcr-disponibles-en-matiere-de-fievre-q.html](http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/methodes-pcr-disponibles-en-matiere-de-fievre-q.html)

Résultat de la PCR rendu de la façon suivante : « Non détecté » (ND, c'est-à-dire absence de valeur Ct) ou « Détecté » (D, c'est-à-dire présence de valeur Ct) avec dans ce cas, résultat < ou > seuil de décision clinique (égal à  $10^4$  en analyse individuelle et à  $10^3$  en analyse de mélange).

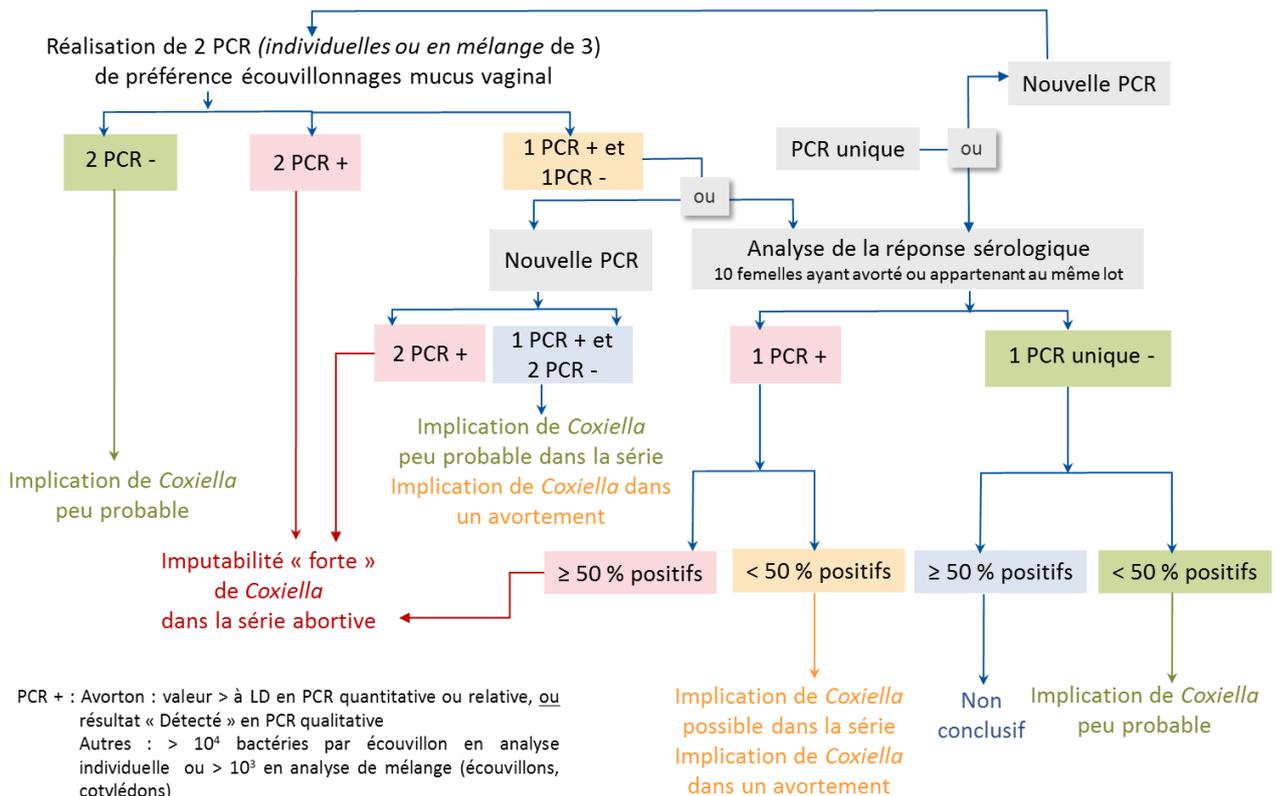
Dans ce cadre, la possibilité est laissée aux départements/régions participant au dispositif de choisir entre différentes modalités de conduite des analyses, par exemple :

- PCR relative et si détection d'ADN cible de *Coxiella burnetii*, < ou > au seuil de  $10^4$  ou  $10^3$  (témoins bactériens dosés),
- PCR qualitative (ND/D) puis reprise des échantillons détectés en PCR relative ou en PCR quantitative (avec respectivement, un standard ADN à la LD et un témoin bactérien au seuil souhaité, ou les 5 points de la gamme et un témoin bactérien  $10^4$ ),
- PCR quantitative (avec 5 points dans la gamme et un témoin bactérien  $10^4$ ).

#### ► Diagnostic indirect :

Sérologie ELISA en complément éventuel de la ou des PCR. On recommande fortement de prélever prioritairement les femelles(s) avortée(s) en complétant si nécessaire avec des femelles à problème de reproduction et d'autres femelles du même lot.

### Arbre décisionnel



PCR + : Avorton : valeur > à LD en PCR quantitative ou relative, ou résultat « Détecté » en PCR qualitative  
Autres : >  $10^4$  bactéries par écouvillon en analyse individuelle ou >  $10^3$  en analyse de mélange (écouvillons, cotylédons)

PCR - : Avorton : valeur < LD en PCR quantitative ou relative ou résultat « Non détecté » en PCR qualitative.  
Autres : Non détecté ou Détecté mais en-dessous des seuils cliniques

## Grille d'interprétation

Imputabilité	Résultats
<b>Peu probable</b> (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 2 résultats d'analyse PCR sur écouvillon &lt; LD ou/et 2 PCR sans résultat « Détecté » sur organe ou liquide stomacal des avorton(s)<sup>9</sup>, ou</li> <li>✓ 1 résultat d'analyse PCR sur écouvillon &lt; LD <u>et</u> moins de 5 femelles séropositives<sup>10</sup></li> </ul>
<b>Possible</b> (++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 1 résultat d'analyse PCR &gt; 10<sup>4</sup> bactéries par écouvillon en analyse individuelle ou 1 résultat d'analyse PCR &gt; 10<sup>3</sup> en analyse de mélange ou 1 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'avorton<sup>11</sup> <u>et</u> moins de 5 femelles du lot touché par les avortements séropositives<sup>12</sup></li> </ul>
<b>Forte</b> (+++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 2 résultats d'analyses PCR &gt; 10<sup>4</sup> bactéries par écouvillon en analyse individuelle (ou &gt; 10<sup>3</sup> en analyse de mélange) ou/et 2 PCR avec détection d'ADN cible sur organe des avorton(s)<sup>13</sup>, ou</li> <li>✓ 1 résultat PCR &gt; 10<sup>4</sup> bactéries par écouvillon en analyse individuelle (ou &gt; 10<sup>3</sup> en analyse de mélange) ou/et 1 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'avorton <u>et</u> 5 femelles ou plus séropositives<sup>14</sup></li> </ul>
<b>Non conclusif</b> Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Toutes les autres situations</li> </ul>

<sup>9</sup> PCR - c'est-à-dire ayant une valeur < à la LD en PCR quantitative ou relative ou un résultat « Non détecté » en PCR qualitative ou relative.

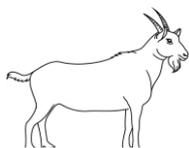
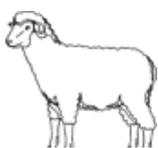
<sup>10</sup> Sur un nombre de femelles prélevées compris entre 5 (minimum) et 10.

<sup>11</sup> PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou relative, ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative ou relative.

<sup>12</sup> 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%.

<sup>13</sup> PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou relative, ou un résultat « Détecté » en PCR qualitative ou relative.

<sup>14</sup> 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%.



# Chlamydiose

## Prélèvements

- Pour le diagnostic direct :

Écouvillons de mucus vaginal, placenta, organes d'avorton (mucus vaginal facile à obtenir mais nécessitant une approche semi-quantitative pour parvenir à une imputation).

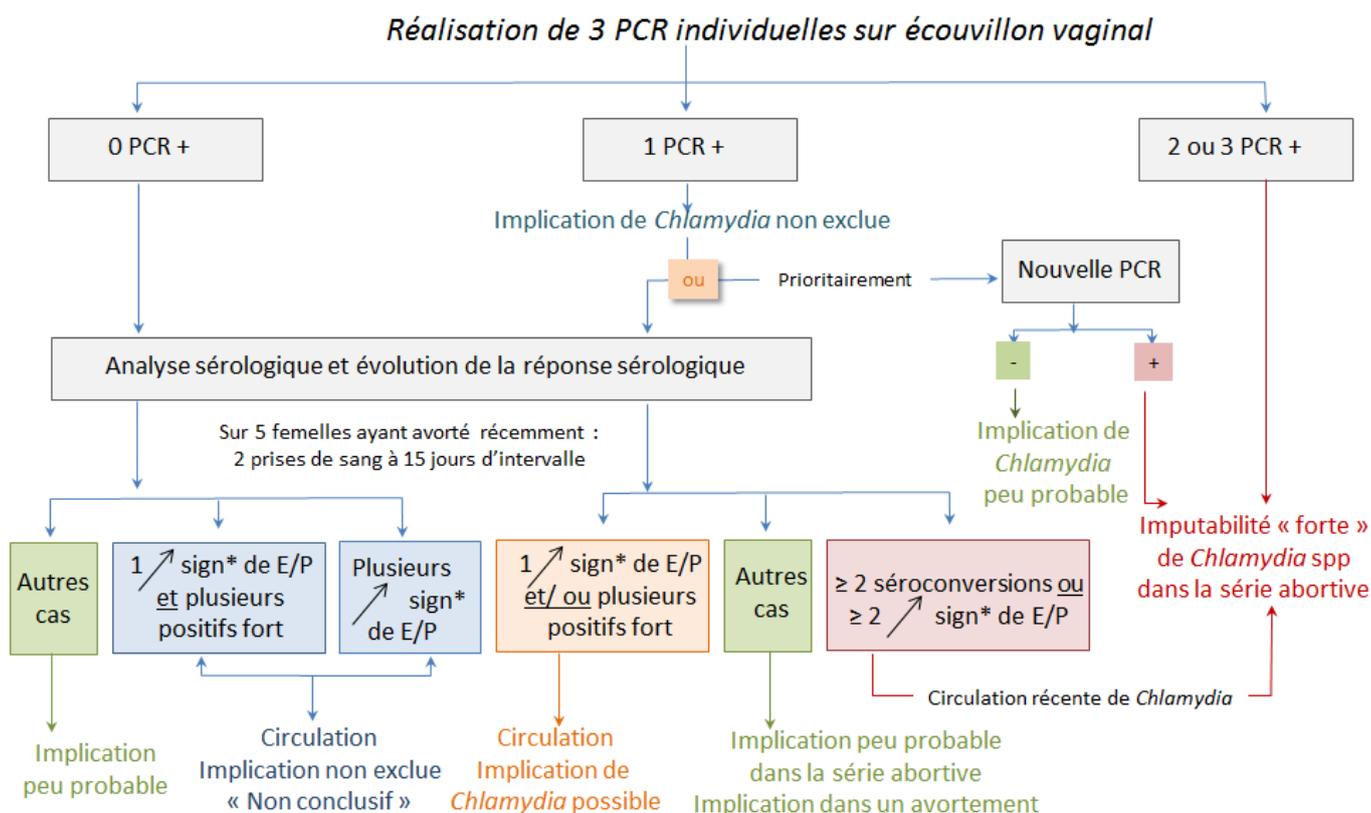
- Pour le diagnostic indirect :

Sérums de 5 brebis ou chèvres du lot touché par les avortements.

## Analyses

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

## Arbre décisionnel



## 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-après reste donc utilisable en contexte vaccinal.

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

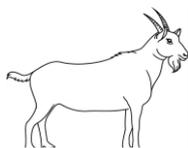
\* Sur mucus vaginal, l'interprétation des PCR se fera au regard des Ct (malgré les réserves émises sur leur interprétation possible et un manque de reproductibilité): < 30 : positive, 30 < <35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue. L'objectif est en effet de limiter le nombre de situations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

\*\*\*\* <sup>1</sup> DO échantillon – DO (contrôle neg)

$$E/P = \frac{DO \text{ (échantillon)} - DO \text{ (contrôle neg)}}{DO \text{ (contrôle pos)} - DO \text{ (contrôle neg)}}$$



# Toxoplasmose

## Prélèvements

- Pour le diagnostic direct :

Encéphales à privilégier. Possible sur le cordon ombilical ou le placenta (ce dernier étant éventuellement moins pertinent car pouvant refléter l'infestation de la mère davantage que celle du fœtus). 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 :

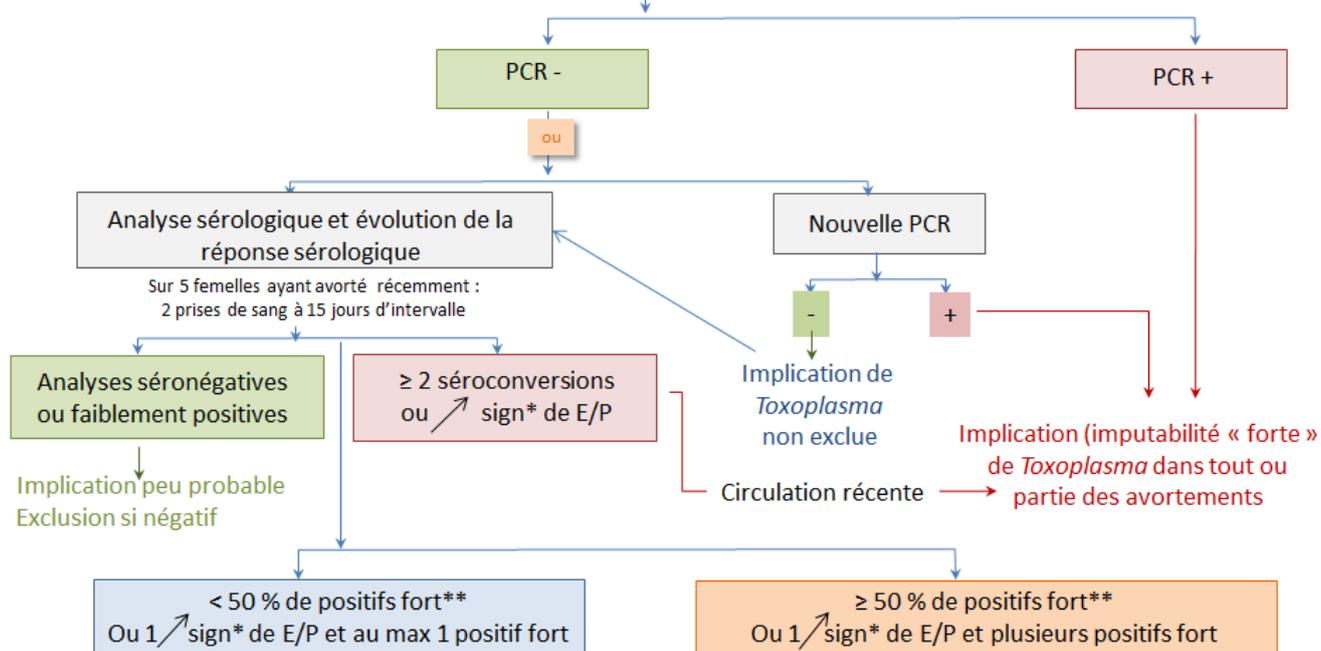
Sérums de 5 brebis ou chèvres du lot touché par les avortements.

## 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 voire la réalisation d'une cinétique, permet alors de compléter l'analyse de diagnostic direct).

## Arbre décisionnel

Réalisation d'une PCR (individuelle ou en mélange de 3 max) sur encéphale de préférence



Non conclusif. *Toxoplasma* est présent dans l'exploitation. Son implication dans la série d'avortements ne peut être exclue (circulation pouvant être ancienne), Une évaluation de la séroprévalence chez les femelles de renouvellement (n=10) peut être intéressante pour préciser la conduite médicale et sanitaire à tenir

Suspicion. Implication possible de *Toxoplasma*

\*\* 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, une augmentation « significative » du ratio E/P est considérée comme une augmentation ≥30 %. Cette valeur pourra être revue en fonction des observations et des études en cours ou à venir.

## Grille d'interprétation

- ▶ Une PCR négative ne permet pas d'exclure l'imputation de *T. gondii*.
- ▶ La longueur du 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<sup>15</sup> 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 (non disponible à ce jour).
- ▶ Eléments 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).

La grille d'interprétation ci-après n'est valable qu'en dehors de tout contexte vaccinal.

Imputabilité	Résultats (hors contexte de vaccination)
<b>Peu probable</b> (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 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</li> <li>✓ PCR négative, ni analyses sérologiques positives (exclusion), ni augmentation de ratio E/P (si une cinétique est réalisée)</li> <li>✓ Absence de PCR. Toutes les analyses sérologiques négatives (exclusion)</li> </ul>
<b>Possible</b> (++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ PCR négative et ≥ 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements</li> <li>✓ PCR négative (ou absence de PCR) et plusieurs femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements ou 1 seule augmentation significative du ratio E/P</li> </ul>
<b>Forte</b> (+++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ PCR positive</li> <li>✓ PCR négative (ou absence de PCR) et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentations significatives des ratios E/P***</li> </ul>
<b>Non conclusif</b> Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Toutes les autres situations<sup>16</sup></li> </ul> <p>Exemples de situations pouvant justifier d'analyses complémentaires :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ PCR négative</li> <li>○ PCR négative ou absence de PCR, moins de 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements <u>et</u> pas d'augmentations de ratio E/P</li> <li>○ PCR négative (ou absence de PCR) <u>et</u> au maximum 1 femelle fortement séropositive (+/- quelques animaux faiblement séropositifs) <u>et</u> 1 seule augmentation significative du ratio E/P</li> </ul>

\*\* 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, 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.

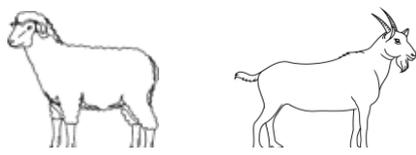
$$E/P = \frac{DO \text{ échantillon} - DO \text{ (contrôle neg)}}{DO \text{ (contrôle pos)} - DO \text{ (contrôle neg)}}$$

<sup>16</sup> Dont PCR seule négative (valeur prédictive négative insuffisante).



# Protocole de diagnostic différentiel des avortements des petits ruminants

**Maladies de deuxième intention**



# Border disease

## Prélèvements

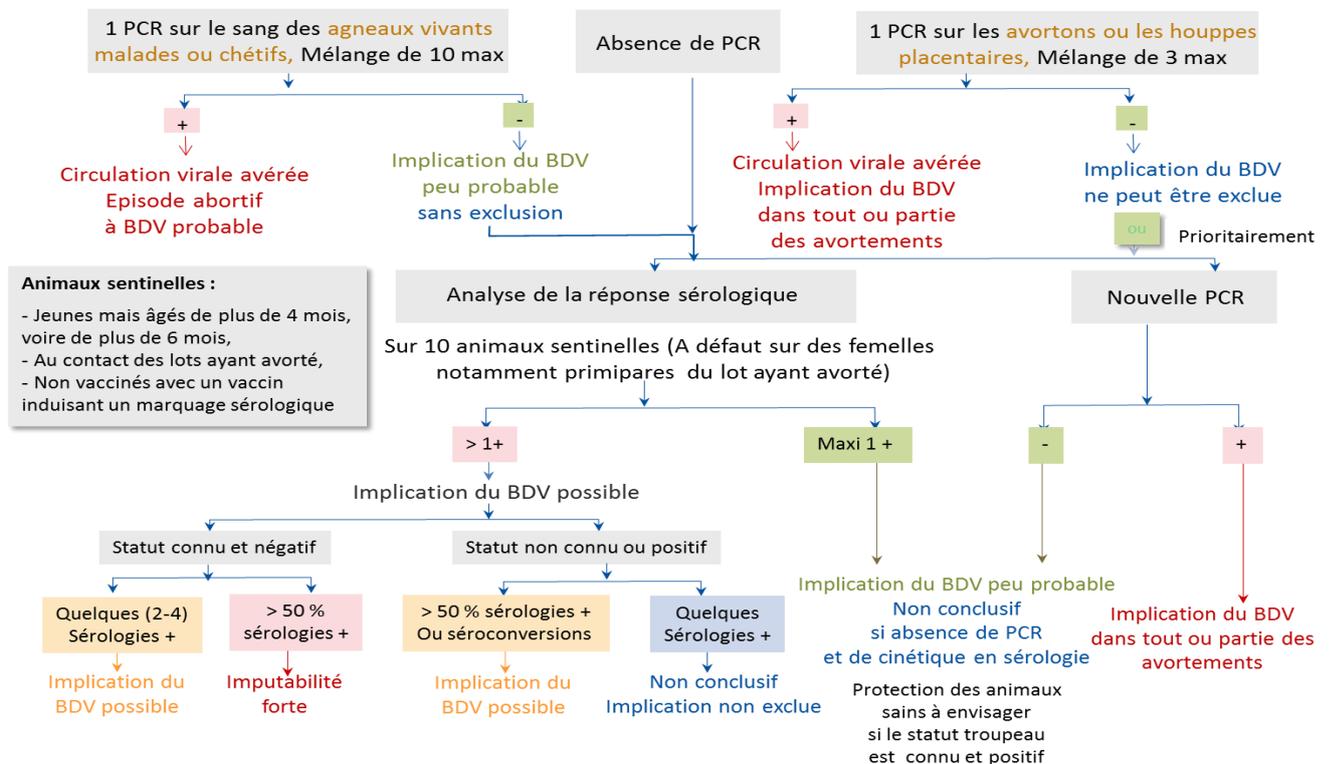
- ▶ Pour diagnostic direct : 3 avortons ou houppes placentaires de 3 femelles avortées ou en cas de présence de nouveau-nés chétifs ou malades (bourrus, hirsutes) de préférence<sup>17</sup> sur tube EDTA.
- ▶ Pour diagnostic indirect : 10 animaux sentinelles (c'est-à-dire appartenant à la plus jeune classe d'âge possible mais âgés de plus de 6 mois, non vaccinés et au contact des femelles ayant avorté) ou à défaut 10 animaux ayant avorté ou du lot touché par les avortements en particulier si le statut du troupeau est connu et négatif.

## 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 touché par les avortements, à interpréter selon le statut antérieur du troupeau).

Animaux sentinelles : plus jeune classe d'âge possible mais de plus de 6 mois, non vaccinés, au contact des femelles ayant avorté. La qualité du choix des animaux sentinelles a une incidence forte sur l'interprétation des résultats obtenus. Une analyse de la séroconversion peut être envisagée. Néanmoins, il convient de prendre en compte le fait que celle-ci peut intervenir après un délai important, pouvant atteindre 30 jours.

## Arbre décisionnel



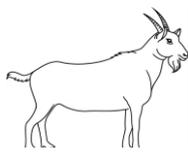
<sup>17</sup> Il est préférable de faire la recherche sur tube EDTA (virus dans les globules blancs). Néanmoins dans ce contexte, pour la recherche d'IPI, compte tenu de la charge virale, il est admissible d'utiliser des tubes secs qui sont en revanche à proscrire pour la recherche d'infection transitoire.

## 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.

Imputabilité	Résultats	
<b>Peu probable</b> (≈0)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ PCR négative <u>et</u> toutes les sérologies négatives sur les sentinelles (exclusion)</li> <li>✓ Toutes les sérologies sur les femelles ayant avorté négatives et absence de séroconversion</li> </ul>	
<b>Possible</b> (++)	Statut épidémiologique connu et négatif	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Parmi les animaux sentinelles ou femelles du lot touché par les avortements : 2 à 4 sérologies positives</li> </ul>
	Statut épidémiologique non connu ou positif	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 50 % ou plus de sérologies positives parmi les animaux sentinelles ou les femelles du lot touché par les avortements</li> <li>✓ Une ou plusieurs séroconversions sur des femelles du lot touché par les avortements initialement séronégatives (attention : la durée de la séroconversion peut être de 30 jours après l'infection)</li> </ul>
<b>Forte</b> (+++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ PCR positive</li> </ul>	
	Statut épidémiologique connu et négatif	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Parmi les animaux sentinelles ou les femelles du lot touché par les avortements: 50 % ou plus de sérologies positives</li> </ul>
<b>Non conclusif</b> Investigations complémentaires à mener le cas échéant	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tous les autres cas</li> </ul> <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 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 sentinelles<sup>18</sup>)</li> <li>○ Absence de PCR, sérologies toutes négatives sur les femelles ayant avorté et pas de cinétique possible</li> </ul>	

<sup>18</sup> C'est-à-dire d'animaux non en contact avec le lot ayant avorté ou/et d'âge inadapté (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*)

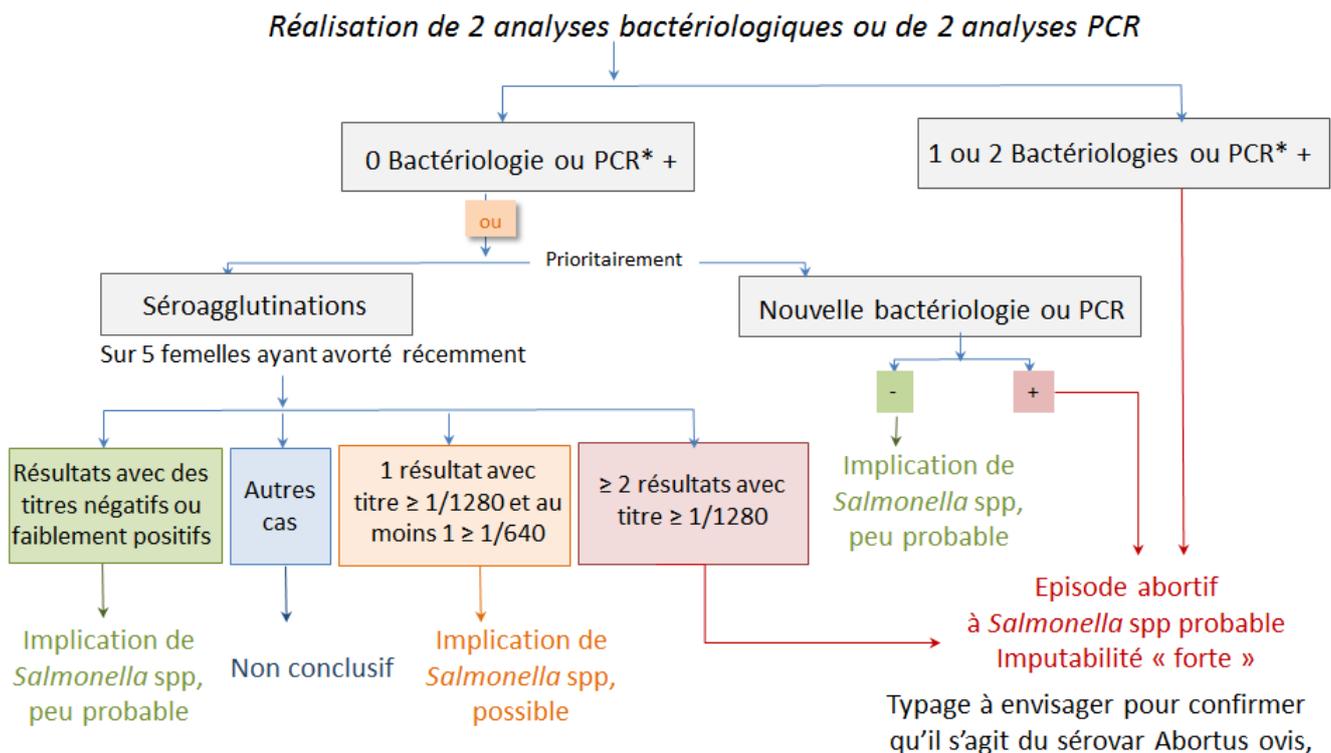
### Prélèvements

- ▶ 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.

### 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*.

### Arbre décisionnel



\* 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 vaginal, l'interprétation des PCR se fera si possible au regard des Ct (malgré les réserves que l'on peut émettre sur leur interprétation en relation notamment avec un manque de répétabilité / reproductibilité): < 30 : positive, 30 < < 35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue

## 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 en zone lait cru).

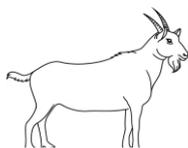
Imputabilité	Résultats
<b>Peu probable</b> (≈0)	✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> résultats sérologiques négatifs ou faiblement positifs
<b>Possible</b> (++)	✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 1/5 résultats sérologiques > 1/1280 et au moins un résultat/5> à 640
<b>Forte</b> (+++)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 1 ou 2 bactériologies positives (analyse recommandée<sup>19</sup>)</li> <li>✓ 1 ou 2 PCR positives**</li> <li>✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 2/5 résultats sérologiques &gt; 1/1280</li> </ul>
<b>Non conclusif</b> 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 vaginal<sup>20</sup>, 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 < Ct < 35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue.

<sup>19</sup> 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.

<sup>20</sup> Peu de références acquises sur mucus vaginal mais des premiers résultats prometteurs.



## Avortements à *Listeria*

Inclure *Listeria monocytogenes* et *Listeria ivanovii*.

### Prélèvements

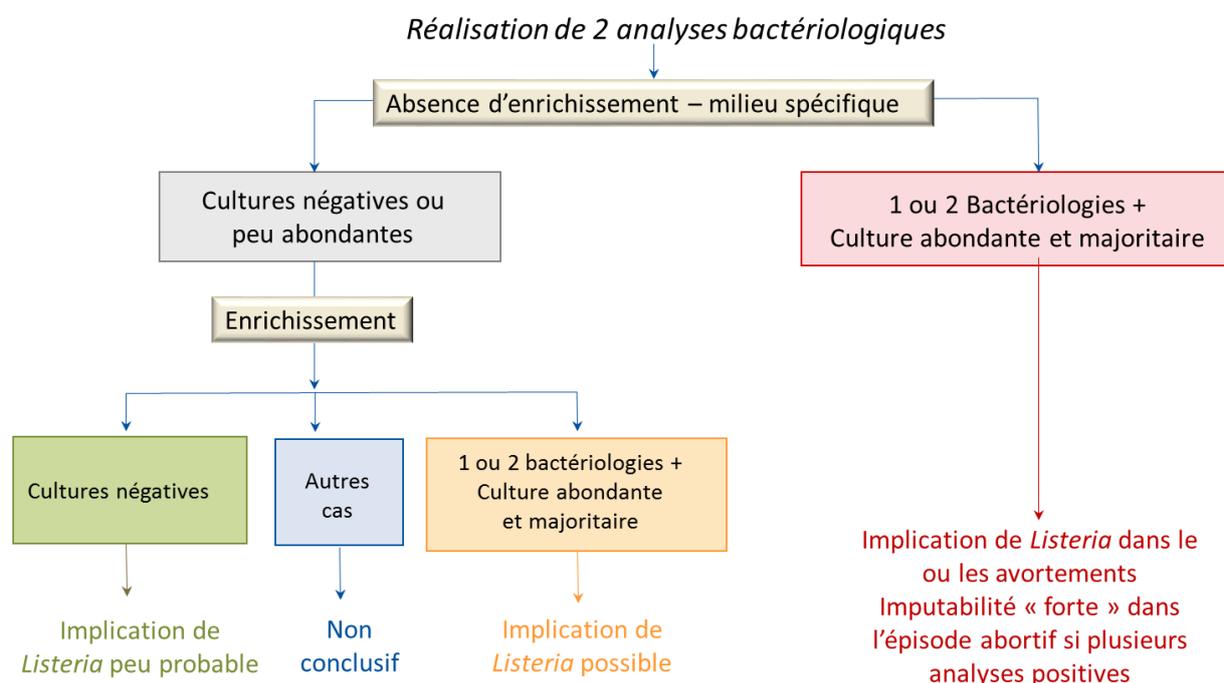
Pour diagnostic direct, selon un ordre de préférence décroissant : liquide stomacal, organes d'avorton, écouvillon de mucus vaginal, houppes placentaires. Un soin tout particulier doit être apporté pour éviter toute contamination des prélèvements. Veiller à la conservation des prélèvements à 4°C ou congelés.

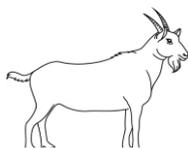
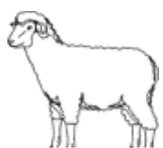
### Analyses

2 analyses bactériologiques. Bactériologie orientée (attention : culture longue). Milieu spécifique. Identification de l'espèce bactérienne.

### Arbre décisionnel

La grille d'interprétation associée aux résultats d'analyse permet d'attribuer l'imputabilité au niveau de la femelle avortée prélevée. Afin d'étendre les conclusions à la série abortive, des analyses sont nécessaires sur plusieurs des femelles ayant avorté.

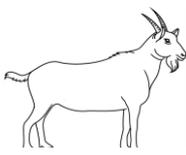
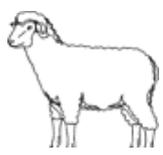




### Grille d'interprétation

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

Imputabilité	Résultats
<b>Peu probable</b> (≈0)	✓ Bactériologies négatives après enrichissement
<b>Possible</b> (++)	✓ <i>Listeria monocytogenes</i> ou <i>Listeria ivanovii</i> isolée en culture abondante et majoritaire après enrichissement
<b>Forte</b> (+++)	✓ 1 bactériologie positive en culture abondante et majoritaire sans enrichissement : imputation de l'avortement concerné à <i>Listeria</i> ✓ Plusieurs bactériologies positives en culture abondante et majoritaire sans enrichissement : imputation de l'épisode abortif à <i>Listeria</i>
<b>Non conclusif</b> Investigations complémentaires à mener le cas échéant	✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> ✓ Isolement parmi d'autres bactéries d'un faible nombre de colonies de <i>Listeria monocytogenes</i> ou <i>Listeria ivanovii</i> après enrichissement



## Agents mycosiques

Pour cette pathologie, la grille d'interprétation associée aux résultats d'analyse permet d'attribuer l'imputabilité au niveau de la femelle avortée uniquement. Afin d'étendre les conclusions à la série abortive, des analyses sont nécessaires sur plusieurs des femelles ayant avorté.

### Prélèvements

Houppes placentaires 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, histologie sur zones placentaires présentant des lésions. En cas de culture positive, si possible, histologie des houppes placentaires (sur lésions)

### Grille d'interprétation :

Contexte épidémiologique et clinique à prendre en compte : présence d'aliments moisissus dans l'exploitation ou l'environnement ; placenta épaissi, parcheminé ; lésions sur le ou les avortons (si avortons frais).

Imputabilité	Résultats
<b>Peu probable</b> (≈0)	✓ Culture négative
<b>Possible</b> (++)	✓ Culture positive <sup>21</sup> sans histologie et tous les autres résultats négatifs
<b>Forte</b> (+++)	✓ Culture positive et histologie positive et absence d'autres pathogènes détectés
<b>Non conclusif</b> 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"><li>○ Culture positive sans histologie</li></ul>

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.

<sup>21</sup> *Aspergillus*, *Mucor* ou *Candida*