

Par Stéphanie PHILIZOT⁽¹⁾ et Jean-Jacques BÉNET⁽²⁾

1. Membre de la Commission vaches allaitantes de la SNGTV.

Clinique vétérinaire du Chatelôt, Route de Dijon 21 140 Semur-en-Auxois

2. Université Paris-Est, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, USC ENVA-ANSES Epi MAI, 94 704 Maisons-Alfort.

stephanie.philizot@wanadoo.fr

●●● Réalisation de l'intradermotuberculation comparative

L'intradermotuberculation comparative compte parmi les outils de détection de la tuberculose bovine chez un animal vivant. Elle permet, dans certains cas, d'apporter plus de spécificité au test d'intradermotuberculation simple. La qualité du résultat dépendant en grande partie de la qualité de la réalisation, cet article détaille les étapes à respecter pour réussir cet acte.

Les outils de détection de la tuberculose bovine chez un animal vivant sont l'intradermotuberculation (IDT), simple (IDS) ou comparative (IDC) et, dans certains cas, le dosage du gamma-interféron (gamma-INF). Le principe de l'IDS consiste à révéler l'immunité provoquée par une infection antérieure par *Mycobacterium bovis* en provoquant une réaction inflammatoire cellulaire par l'injection intradermique de tuberculine bovine. La réaction, en cas de sensibilisation post-infectieuse préalable, est à son maximum à partir de 72 heures. Compte tenu de l'existence de réactions croisées avec d'autres germes (mycobactéries atypiques, aviaires, etc.), il peut être nécessaire d'augmenter la spécificité du test en comparant les réactions obtenues après injection de tuberculines bovine et aviaire en deux sites séparés. L'IDC consiste donc en l'injection intradermique, en deux sites distants de 20 cm situés sur le plat d'un même côté de l'encolure, de 0,1 ml de tuberculine bovine et de 0,1 ml de tuberculine aviaire, en avant de la précédente. La lecture après 72 heures s'effectue par comparaison des deux réactions. En IDC, la mesure du pli de peau est donc indispensable, ce qui renforce diverses exigences concourant à la qualité d'une tuberculation.

RÉSUMÉ

L'intradermotuberculation comparative chez les bovins est une méthode de dépistage de la tuberculose bovine qui donne une spécificité supérieure à celle de l'intradermotuberculation simple. Elle consiste à comparer la réaction allergique obtenue par injection intradermique de tuberculine bovine à celle obtenue par injection de tuberculine aviaire. Pour obtenir un résultat fiable, le praticien doit obéir à des règles rigoureuses pré-analytiques (contention et marquage), analytiques (mesures du pli de peau et injection de la tuberculine) et post-analytiques (rédaction du compte-rendu et interprétation). La qualité du résultat de ce test dépend de la qualité de la réalisation de chaque étape et engage donc pleinement la responsabilité du praticien.



Clôché : Stéphanie Philizot

La contention et le repérage des sites d'injection, conditions préalables indispensables

Photo 1. Marquage des deux sites d'injection.

Préalablement à la réalisation des injections, une bonne contention de l'animal doit impérativement être assurée. Par exemple au couloir, il est nécessaire de prendre les animaux un par un au cornadis situé à l'avant du couloir. Les animaux étant immobilisés, l'opérateur agit mieux et plus vite, cela permet d'accroître la

Clichés : Stéphanie Philizot



Photo 2 (à gauche).
Mesure du pli de peau.



Photo 3 (à droite).
Injection de la tuberculine.

qualité de la réalisation et de diminuer le temps global de l'opération.

Les sites d'injection appropriés sont la jonction du tiers moyen et du tiers postérieur pour la tuberculine bovine (Photo 1) et la jonction du tiers antérieur et du tiers moyen de l'encolure pour la tuberculine aviaire. L'injection au pli caudal est strictement interdite en Europe. Elle est nettement moins sensible et la mesure objective d'un épaissement du pli de peau à cet endroit est très difficile en raison de sa finesse.

Il faut vérifier au préalable, par palpation de la peau, l'absence de lésion cutanée (épaississement de la peau, gale...) ou de nodule (injection vaccinale par exemple) qui pourrait fausser la lecture du résultat. Si un nodule existe, on peut utiliser l'autre côté de l'encolure ou, si c'est impossible, se placer de part et d'autre du nodule en le mentionnant sur la feuille de résultat. Les sites d'injection sont repérés aux ciseaux ou à la tondeuse en coupant les poils perpendiculairement au sens de pousse (Photo 1). Il est déconseillé d'utiliser un rasoir en raison du risque d'inflammation locale, mais il est possible d'apposer une marque avec une bombe de peinture ou en utilisant un pochoir constitué d'un tuyau dont la section est imprégnée de peinture.

Étapes de la réalisation du test

Mesure du pli de peau le premier jour (J0)

Pour réaliser cette mesure, le cutimètre à cadran et à ressort (gradué en millimètres) est le plus facile d'utilisation et le plus sûr; le cutimètre électronique est plus fragile et plus cher; le pied à coulisse de mécanicien est à proscrire car d'une part, le pli de peau est plus facilement écrasé, ce qui occasionne une plus forte variabilité des mesures, et d'autre part, la lecture est nettement plus difficile. Le pli de peau est formé verticalement par pincement avec la main libre, au milieu de la zone

marquée et le cutimètre est mis en place horizontalement de l'autre main (Photo 2). On laisse descendre l'aiguille par compression de la peau. En théorie, il faudrait ensuite serrer la vis du cutimètre et le retirer pour la lecture; c'est difficile en pratique: on lit le résultat avec le cutimètre en place. La première mesure est réalisée en avant et s'appelle A0, la deuxième, en arrière, est B0, elles sont dictées à un aide au fur et à mesure de leur obtention.

Pour cette étape, essentielle dans l'interprétation du résultat, la régularité du geste de l'opérateur engendrera une régularité de résultat pour le même pli de peau. C'est pourquoi nous préconisons:

- Premièrement, un apprentissage préalable de l'intervenant en procédant plusieurs fois à la mesure jusqu'à obtention d'un résultat répétable.
- Deuxièmement, que l'opérateur réalisant la lecture trois jours plus tard soit le même que celui qui a mesuré à J0 et qu'il utilise impérativement le même matériel.

Injection des tuberculines

L'injection doit absolument être intradermique: l'aiguille est insérée avec un faible angle par rapport à la peau et non perpendiculairement pour rester dans le derme (Photos 3 et 4). La tuberculine aviaire est injectée sur le site antérieur et la tuberculine bovine sur le site postérieur (attention aux inversions, si par accident cela se produit, le noter immédiatement sur la feuille de résultats). Pour éviter les inversions, on marque une des seringues avec un ruban de couleur. L'injection doit se faire «lentement» pour éviter une pression trop importante du liquide et il faut laisser l'aiguille en place «un certain temps» pour faciliter la diffusion du liquide sous pression et éviter qu'il ne ressorte. La formation d'une papule à la suite de l'injection doit être SYSTÉMATIQUEMENT vérifiée. En l'absence de papule ou si du liquide est ressorti, l'injection est ratée et doit être recommencée.

Lecture du résultat à J3

La lecture ne doit en aucun cas s'effectuer avant 72 h et peut se faire sans inconvénient jusqu'à 96 h après injection, mais il vaut mieux respecter toujours les mêmes procédures. Les réactions tuberculeuses avec « tumeur, rougeur, chaleur » sont rares et une inspection visuelle ne suffit pas, encore moins si elle est effectuée à distance : on doit évaluer les réactions en recherchant un épaissement cutané par palpation manuelle des sites d'injection. Il faut être d'autant plus vigilant que dans de nombreux élevages infectés, le nombre d'animaux présentant une réaction non négative est faible, moins de 5 en général (un seul animal dans 40 % des cas ; un ou deux dans 60 % !) et que les réactions sont souvent discrètes (pendant la campagne 2009-2010 en Côte-d'Or, sur les 3071 bovins ayant réagi à la tuberculine bovine parmi près de 83 000 bovins tuberculinsés, 2/3 des réactions étaient comprises entre 2 et 4 mm).

En cas de réaction palpable, il faut mesurer la nouvelle épaisseur de la peau à l'endroit de la réaction sans chercher à minimiser cet épaissement. Pour un animal donné, les mesures sont réalisées sur le site aviaire et sur le site bovine, même si un seul des deux présente une réaction. Elles sont appelées respectivement A3 et B3. Elles sont dictées à l'aide qui les reporte sur la feuille de résultats.

Il est très important de mesurer toutes les réactions dès lors qu'elles sont décelables, quelle que soit leur intensité et même si elles paraissent faibles ou diffuses ; cela permet de voir sur un cheptel le nombre total d'animaux réagissants, donc de savoir s'il y a une forte pression de mycobactéries dans l'élevage. En particulier, la mesure des réactions aviaires permet de caractériser la présence de mycobactéries atypiques dans l'élevage. C'est une information capitale pour l'interprétation des résultats. En revanche, la réalisation de mesures en l'absence de réaction palpable à J3 est inutile et rend le compte rendu illisible. En effet, l'interprétation est rendue plus compliquée lorsque les tableaux de résultats sont entièrement remplis de chiffres.

Il faut noter que même en l'absence de réaction, une faible variation entre J0 et J3 est fréquemment constatée. Elle est parfois négative (mesure J3 inférieure à mesure J0) lors de fortes variations climatiques ou de modification de l'alimentation des animaux entraînant une variation de l'état d'hydratation de la peau.

Enregistrement et interprétation des résultats

Rédaction du compte rendu

Le vétérinaire ayant réalisé des IDC engage sa responsabilité et les conséquences de cet examen

Cliché : Stéphanie Philizot



Photo 4.
Les trois seringues à tuberculiner.

← La seringue Synthéna (ancien dispositif).

← La seringue Multo.

← La seringue Mc Lintock.

peuvent être lourdes pour l'éleveur. C'est pourquoi il est essentiel de veiller à la qualité du compte-rendu (Document 1). Voici quelques règles à respecter :

- Le compte rendu et la formulation du résultat doivent être réalisés sur place (pas de brouillon) et être signés par l'éleveur afin d'éviter d'éventuelles erreurs de recopiage ou des contestations *a posteriori*.

- Sur la première page doivent figurer la date, les coordonnées complètes du vétérinaire et de l'éleveur et éventuellement une étiquette à code-barres du Document d'Accompagnement des Prophylaxies (DAP). La date et le numéro de cheptel doivent également figurer sur les pages suivantes. Les animaux n'étant souvent identifiés que par leur numéro de travail, les pages doivent pouvoir être attribuées sans aucun doute possible à l'élevage en question.

- À J0, on reporte toutes les mesures ; à J3, on ne reporte que les mesures des bovins ayant présenté une réaction (même faible et même en aviaire).

- Noter sur le compte rendu les éventuelles observations complémentaires (chaleur, rougeur, œdème, réaction sous-cutanée qui n'aurait pas été décelée à J0, réaction « en placard » etc.).

Interprétation des résultats

Les règles d'expression des résultats individuels sont les suivantes :

Pour chaque animal ayant réagi, on calcule l'épaissement du pli de peau, soit :

$\Delta A = A3 - A0$ et $\Delta B = B3 - B0$, puis on regarde ΔB :

Document 1.
Exemple de
compte rendu.
Source : DDPP 21.

- Si ΔB est ≤ 2 mm, alors le test est négatif quelle que soit la différence ($\Delta B - \Delta A$).
- Si ΔB est $> \text{à } 2$ mm, alors :
 - Si $(\Delta B - \Delta A) > 4$ mm, le résultat est positif;
 - Si $(\Delta B - \Delta A) < 1$ mm, le résultat est négatif;
 - Si $1 \leq (\Delta B - \Delta A) \leq 4$ mm, le résultat est douteux.

La formulation des résultats pour l'ensemble des animaux soumis au test se fait de la façon suivante :

- Si tous les résultats individuels sont négatifs, le résultat à l'échelle du troupeau est négatif;
- Si au moins un résultat individuel est positif, le résultat à l'échelle du troupeau est positif;
- Si au moins un résultat individuel est douteux, le résultat à l'échelle du troupeau est douteux.

L'interprétation des résultats de l'élevage est à effectuer en fonction du contexte (des résultats antérieurs de l'élevage, de ses facteurs de risque, des élevages environnants, de l'indication du test) ; elle est délicate et requiert souvent l'expertise de la Direction Départementale en charge de la Protection des Populations (DD(CS)PP) qui décidera des suites à donner. Elle doit tenir compte aussi de la spécificité de l'IDC, qui peut varier de façon importante selon les régions (0,89 à 1), en fonction de la fréquence de sensibilisation des bovins par des mycobactéries non tuberculeuses, de la nature de celles-ci pour la spécificité individuelle, étant entendu que pour une valeur donnée de spécificité individuelle, la spécificité au niveau du cheptel dépend du nombre d'animaux soumis au test. Ainsi, en Côte-d'Or, pour la campagne 2009-2010, la spécificité individuelle de l'IDC a été de l'ordre de 0,993, mais la spécificité trou-

peau n'était en moyenne que de 0,58. On comprend l'intérêt du recours à un deuxième test comme le dosage du gamma-interféron (gamma-IFN) sur les animaux non négatifs en IDC, même si, en Côte-d'Or en 2009-2010, seulement 59% d'entre eux ont été directement requalifiés sur la base d'un résultat favorable au gamma-IFN. Dans les régions où le gamma-IFN n'est pas disponible, un deuxième test réalisé six semaines plus tard et/ou un abattage diagnostique pourront permettre d'élucider les cas positifs ou douteux.

Ne pas déclarer une réaction non négative constitue un manquement grave aux responsabilités du vétérinaire sanitaire, susceptible de retarder considérablement la détection d'un foyer et d'engendrer des poursuites contre le vétérinaire et l'éleveur. Le vétérinaire devrait par conséquent se limiter à la stricte formulation du résultat, en laissant dans les cas non totalement explicites (négatif ou fortement positif) la responsabilité de l'interprétation à la DDPP, afin d'éviter une éventuelle distorsion des déclarations entre vétérinaire praticien et DDPP.

Conclusion

La réalisation des IDC nécessite une grande rigueur, c'est un acte répétitif pour lequel il convient de toujours appliquer les mêmes procédures, pour éviter tout risque d'erreur. Il est peu valorisant, c'est néanmoins à ce jour la meilleure méthode de terrain pour la détection des foyers de tuberculose dans un environnement à fort risque de réactions non spécifiques à la tuberculine bovine. L'intradermotuberculination (IDT) s'avère efficace dans la détection des foyers de tuberculose bovine: ainsi, en 2010 en Côte-d'Or, 41 des 43 foyers découverts l'ont été à partir des IDT. Le dosage du gamma-interféron vient aujourd'hui à l'appui de l'IDC dans les cas litigieux (résultats douteux). Cependant, il est un examen complémentaire qui ne se superpose pas exactement à l'intradermotuberculination et il n'est pas, en l'état actuel des choses, utilisable à grande échelle. Le rôle du vétérinaire sanitaire est donc central dans la détection des foyers de tuberculose bovine, en partenariat avec les DD(CS)PP.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Alexandre Fediaevsky (DGAL), Fabrice Chevalier (DDPP21) et Thierry Virely (GTV 21) pour leur relecture et leurs contributions.

POUR EN SAVOIR PLUS

Sur l'intradermotuberculination et sur la tuberculose bovine: Velisa, site de veille en santé animale réalisé par l'INRA. www2.toulouse.inra.fr/velisa