

Etude de la transmission de Map de la mère à son veau et entre veaux en testant une nouvelle méthode « Phage-PCR Map » sur sang.

Partenaires de l'étude : BIOSELLAL (FR), GDS 88 et PBD Biotech (UK), 2 élevages vosgiens, les vétérinaires des exploitations, le LVDA55-SEGILAB.

Etude réalisée entre novembre 2017 et mars 2019 par Carine HAAS, conseillère en Santé Animale au GDS 88 carine.haas@gds88.com et Claire PELLETIER, consultante en Santé Animale, pelletier.claire@ymail.com.

Les outils de diagnostic actuels de la paratuberculose permettent une détection de l'infection d'un animal par Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis (Map) à partir de l'âge de 18-24 mois, sans distinction entre une infection active et une infection passive. Or, c'est majoritairement lors du premier mois de vie que la contamination des veaux intervient.

Dans les troupeaux infectés, l'amélioration de la connaissance de la contamination des jeunes (0-12 mois) et le développement d'outils de diagnostics permettant de les détecter pourraient permettre une avancée notable dans la gestion de la maladie dans les troupeaux afin de les exclure précocement du troupeau reproducteur.

Contexte

La paratuberculose est une maladie contagieuse, répandue en France comme dans le monde, chez les ruminants domestiques ou sauvages, causée par la *Map*. Elle se manifeste à l'âge adulte par une entérite chronique létale dans ses formes les plus sévères. La paratuberculose semblerait avoir pris de l'ampleur ces dernières années en raison des regroupements d'élevage mais également de la mise en œuvre de conduites d'élevage non favorables. A court terme, elle ne constitue pas forcément un problème financier majeur dans les élevages faiblement touchés. Toutefois, à long terme, la prévalence et la gravité des symptômes tendent à s'amplifier, la contamination devient plus difficilement maîtrisable et la maladie est alors économiquement moins supportable lorsqu'elle atteint une grande part du troupeau en production.

Si ce sont les bovins adultes qui expriment la maladie, la contamination active a lieu pour 80% lors du premier mois de vie des veaux. L'infection est essentiellement horizontale par voie orale, même si une transmission *in utero* a été décrite. *Map* est en effet présente dans l'environnement du jeune veau, notamment sur les mamelles souillées par les fèces voire dans le colostrum.

Les recherches concernant la *Map* ont montré qu'une primo infection précoce serait à l'origine d'une bactériémie et d'une contamination durable pour les veaux (Dr J.Vialard). De même, une bactériémie transitoire est décrite sur des adultes en phase préclinique (AFSSA 2009).

La gestion de la paratuberculose est complexe et nécessite une meilleure connaissance de la contamination des veaux, afin d'objectiver la maîtrise des pratiques à risques et d'inciter les éleveurs à la mise en place de mesures correctives. Dans le département des Vosges, certaines mesures sont déjà mises en place, pour limiter l'expression clinique et la diffusion de *Map* au sein d'un troupeau :

- Gestion de la contamination des jeunes et de leur sensibilité à l'infection pour limiter l'amplification de la maladie.
- Gestion des facteurs de risque influant sur la digestion des adultes pour limiter l'expression clinique.
- Gestion des animaux à excréteurs (PCR positif sur fèces).

L'objectif de cette étude était d'évaluer la transmission de la *Map* de la mère à son veau et de veaux à veaux en testant la méthode « Phage-PCR *Map* » sur le sang et en optimisant la PCR sur fèces des veaux.

Matériel et méthode

L'étude s'est déroulée entre novembre 2017 et mars 2019. Deux élevages (3 au départ) connus infectés ont été choisis pour travailler sur la mise en évidence de la contamination des veaux, avec une séroprévalence autour de 10 % et une prévalence d'excrétion des animaux séronégatifs de 17 % (élevage A) à 47 % (élevage B). Les conduites diffèrent autour du vêlage avec notamment une durée de contact réduite pour les veaux : élevage A, contact 1 à 6 heures maximum, élevage B, contact souvent supérieur à 12 heures. Puis, les veaux mâles et femelles de l'élevage A sont placés en cases individuelles pendant le premier mois, alors que seules les femelles de l'élevage B sont isolées des adultes, individuellement puis dans des box collectifs.

Afin de constituer des cohortes de naissance d'un veau issu d'une mère excrétrice pour deux veaux issus de mères non-excrétrices, 25 vaches *Map*-positives et 50 vaches *Map*-négatives, vêlant en même temps, ont été présélectionnées par ELISA puis par PCR sur fèces.

Le statut des mères a été confirmé par PCR fèces (Bio-T kit® *MAP*, Biosellal) et par la méthode « Phage-PCR *Map* » sur le sang, dans le mois précédant et suivant le vêlage.

Chaque veau a été testé mensuellement depuis sa naissance, sur une période moyenne de plus de six mois (écart de 1 à 16 mois), en utilisant la méthode « Phage-PCR *Map* » sur sang total et un Test PCR sur des échantillons fécaux (Bio-T kit® *MAP*, Biosellal). Des prélèvements d'environnement ont été également réalisés (analysés par le même Test PCR), afin de confirmer de la présence de *Map* dans les lots des animaux testés dans l'étude.

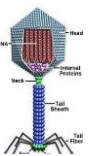
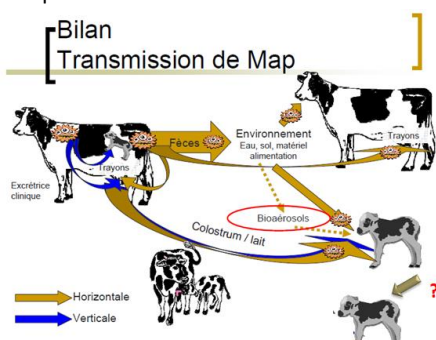


Figure 1 : voies de transmission de *Map* dans un troupeau



La méthode « Phage-PCR Map » sur sang

La méthode « Phage-PCR Map » est basée sur l'utilisation de Mycobactériophages, virus capables d'infecter de façon spécifique les **Mycobactéries viables en phase de multiplication**. À la suite de l'infection des Mycobactéries par les phages, ces derniers se multiplient en réalisant un cycle lytique qui conduit à la libération du génome bactérien. Une PCR spécifique de la Mycobactérie recherchée est alors effectuée directement. Le test Phage utilisé dans cette méthode (Actiphage™) a été développé à l'Université de Nottingham (UK) par les Docteurs Catherine Rees et Benjamin Swift. Il peut être utilisé sur le sang ou sur le lait pour détecter de façon sensible et rapide toute Mycobactérie pathogène chez l'Homme ou l'animal, la spécificité de la détection étant conférée par la PCR d'identification (Bio-T kit® MAP, Biosellal) utilisée en aval du test. Dans le cas de la détection sur sang, les prélèvements sont réalisés sur tubes héparinés et doivent être acheminés au laboratoire d'analyses dans les 48 heures maximum, en maintenant une température de 20-25°C. La durée de l'analyse est ensuite de 24 heures.

Résultats :

Les 84 mères sélectionnées ont été testées sur les 2 matrices, sang et bouse, avant et après mise bas : 39% des mères ont été positives en PCR sur bouse. Par contre, la bactériémie n'a été identifiée sur aucun des 176 échantillons de sang des mères analysées en Phage PCR, y compris celles en phase clinique ou préclinique. Le statut des mères a été recalculé en fonction des résultats sur fèces obtenus avant et après vêlage et des résultats cumulés sur sang et fèces de leur veau (figure 5). 51% de vaches « statut négatives » sont restées « négatives » avant et après vêlage et 82% des positives ont maintenu leur statut.

84 veaux ont été testés sur sang et fèces mensuellement sur une durée de 1 à 16 mois selon les veaux, pour un total de 600 analyses par matrice. 36 (42%) veaux ont eu des résultats positifs sur fèces. La MAP a été identifiée sur 4 échantillons de sang de veaux dès le premier jour de vie par la méthode Actiphage-PCR (figure 2). Une excrétion fécale a aussi été détectée par PCR sur fèces de veaux dès le premier mois (figure 3). Au total, 11 veaux (30% des veaux positifs) ont eu des résultats positifs le premier mois de vie. La bactériémie a été mise en évidence sur 8% (ou 20% des veaux positifs) des veaux testés et a été confirmée par de l'excrétion fécale plus tardivement (4-6 mois). Ainsi, la valeur prédictive négative d'un résultat négatif sur sang et fèces lors du premier mois de vie sur une excrétion récurrente de Map avant 12 mois est de 87.2% pour le cheptel A et 82% pour le cheptel B. Les résultats des prélèvements d'environnement sont logiquement en concordance avec l'excrétion fécale des animaux (figure 4).

Limites :

Les éleveurs avaient connaissance des résultats initiaux sur les mères mais pas en cours d'étude.

Une grosse différence de mères excrétrices dans les 2 élevages peut être notée : 13% dans l'élevage A, contre 66% dans l'élevage B. Plus il y a de mères excrétrices avant vêlage à proximité des mères négatives et plus la contamination globale des veaux est élevée : 65% de veaux positifs dans l'élevage B contre 21% dans l'élevage A.

Conclusion :

L'étude a mis en évidence grâce aux 2 techniques utilisées, **une forte excrétion des veaux dans des conditions d'élevage avec une confirmation de l'excrétion dans l'environnement.**

De grosses différences ont pu être remarquées entre les élevages au regard des résultats sur les veaux et de leurs conduites d'élevage. Une bactériémie a pu être mise en évidence sur 20% des veaux positifs. D'après les scientifiques, elle est à l'origine de la clinique à l'âge adulte. En l'absence de bovins adultes, il a été montré que l'excrétion des veaux peut être consécutive à une contamination précoce au cours du premier mois de vie, mais également à une contamination environnementale inter-veaux.

Cette étude a su pointer un facteur majeur à gérer pour améliorer l'efficacité des actions et confirme la nécessité de maîtriser ces risques pour limiter la contamination des veaux. Ainsi, ces deux nouveaux outils de diagnostic de la paratuberculose, en ouvrant une fenêtre de détection encore inconnue, permettent d'envisager une gestion précoce des animaux infectés avec une valeur prédictive positive d'excrétion récurrente à 5 mois de 100% et une objectivation de la maîtrise des pratiques d'élevage tendant à réduire la dissémination de Map au sein d'un troupeau et assurer un avenir plus serein.

Remerciements aux éleveurs et aux vétérinaires

Figure 2 : nombre de veaux ayant leurs 1^{er}s résultats positifs sur sang par tranche d'âge.

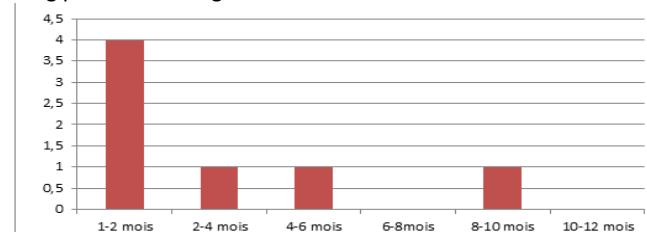


Figure 3 : nombre de veaux ayant leurs 1^{er}s résultats positifs sur fèces par tranche d'âge.

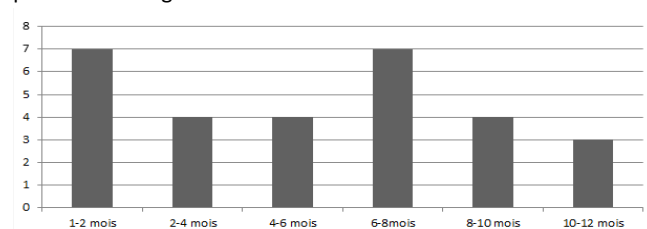


Figure 4 : résultats des prélèvements d'environnement par type de logement.

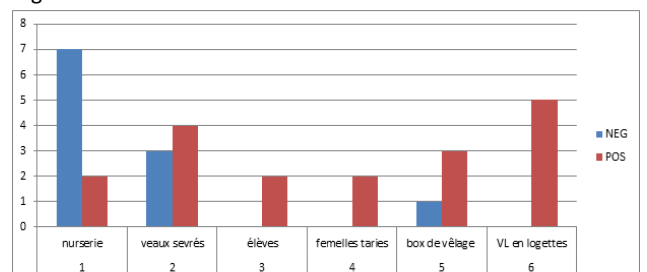


Figure 5 : statut recalculé des mères en fonction des résultats avant et après vêlage et avec les résultats de leurs veaux.

