

Le lait de tank, un outil de plus pour le dépistage et l'éradication de l'IBR dans les élevages bovins.

Jean-Baptiste HANON et Brigitte Caij
CODA-CERVA
Direction opérationnelle des maladies virales
Unité des maladies enzootiques et (ré)émergentes.

Introduction

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie virale des bovins se manifestant principalement par des symptômes respiratoires ou des troubles de la reproduction (avortements, infertilité). Elle est provoquée par un herpesvirus, le BHV-1. Une fois infectés, les bovins séro-convertissement et deviennent porteurs à vie du virus qui peut rester à l'état latent dans les ganglions nerveux. Après réactivation provoquée par un stress, le virus peut être ré-excrété, contaminant ainsi les animaux sains. Pour cette raison plusieurs pays européens dont la Belgique se sont engagés dans un plan d'éradication de la maladie, consistant à dépister et éliminer progressivement tous les animaux séropositifs de façon à obtenir des troupeaux complètement indemnes. Ce dépistage se fait grâce à des tests ELISA qui peuvent être pratiqués sur des échantillons de sérum ainsi que sur des échantillons de lait individuel et de lait de tank comme l'autorise d'ailleurs la législation Européenne (Décision 2004/558/CE de la Commission modifiée par la décision 2010/433/UE).

Dans la plupart des pays européens ayant mis en place un plan de lutte IBR, le lait est utilisé comme matrice pour le dépistage de l'IBR dans les troupeaux bovins laitiers, que ce soit pour l'acquisition ou pour le maintien de statut indemne en IBR du troupeau. C'est le cas notamment des pays voisins de la Belgique (Allemagne, France, Pays-Bas). En Belgique l'Arrêté Royal relatif à la rhinotrachéite infectieuse bovine (A.R. du 22/11/2006 modifié par A.R. du 16/02/2011) prévoit la possibilité de maintenir le statut indemne en IBR (statut I3 ou I4) dans un troupeau laitier, sur base de 6 analyses de lait de tank par an (complétées par une sérologie annuelle sur les bovins non laitiers). Cependant, à ce jour, les kits ELISA IBR utilisables sur le lait n'ont pas encore fait l'objet d'une procédure de certification par le laboratoire de référence CODA-CERVA et ne peuvent donc pas être utilisés dans le cadre de la lutte officielle. Le dépistage IBR des troupeaux se fait donc actuellement par l'analyse sérologique provenant de prélèvements sanguins individuels des bovins adultes.

Les statuts sérologiques IBR et les tests de dépistage utilisés

Dans un troupeau infecté, la vaccination, permet de réduire la circulation virale et donc la contamination des animaux infectés. Les vaccins utilisés sont fabriqués à partir d'une souche virale qui est délétée pour le gène codant pour la glycoprotéine gE, l'une des glycoprotéines externes du virus sauvage BHV1. Cette souche possède toutefois les gènes des autres glycoprotéines telles que la glycoprotéine gB. Grâce à cette technique il est possible de différencier les animaux infectés par le virus sauvage, porteurs d'anticorps anti-gE (gE+) et anti-gB (gB+) des animaux sains mais vaccinés, ne possédant pas d'anticorps anti-gE (gE-) mais possédant les anti-gB (gB+). Les animaux sains qui n'ont pas été infectés ne présentent quant à eux aucun anticorps vis-à-vis de l'IBR et seront donc négatifs dans tous les tests sérologiques (gE-, gB-).

Différents tests ELISA sont disponibles et permettent ainsi de déterminer le statut IBR de l'animal conformément au tableau récapitulatif ci-dessous :

Statut Animal	ELISA gE	ELISA gB	ELISA Indirecte
Infecté en IBR	+	+	+
Non infecté et vacciné IBR (vaccin délété)	-	+	+
Ni infecté, ni vacciné	-	-	-

Evaluation de l'utilisation des tests ELISA pour le dépistage de l'IBR sur le lait en vue d'une utilisation en Belgique.

Une étude a été effectuée par le CODA-CERVA au cours de l'année 2011 et a permis une première évaluation de plusieurs tests ELISA commerciaux disponibles sur le marché européen et permettant le dépistage de l'IBR sur le lait. Elle avait pour objectif l'estimation des caractéristiques de ces tests sur lait individuel et sur lait de tank (sensibilité, spécificité, détectabilité) et leur concordance avec les tests officiels pratiqués sur sérum. Différents partenaires ont apporté leur contribution à cette étude qui a impliqué 92 éleveurs provenant de toute la Belgique, les laboratoires vétérinaires régionaux (ARSIA et DGZ), les organismes de contrôle laitier (Comté du lait et MCC) et 5 fabricants de kits ELISA.

Sept kits ELISA ont été ainsi évalués (2 kits ELISA gE, 1 kit ELISA gB et 4 kits ELISA indirect). Les conclusions de cette étude ont conduit à des recommandations utiles à une procédure ultérieure de certification officielle des kits ELISA IBR sur le lait pour une utilisation dans le programme de lutte contre l'IBR en Belgique.



Particularités du dépistage sur lait de tank

Le lait de tank est constitué de la production d'une ou plusieurs traites de l'ensemble des vaches en lactation d'un troupeau laitier. L'analyse d'un échantillon de lait de tank par la recherche d'anticorps permet donc en principe de détecter la présence d'animaux adultes infectés dans le troupeau, à l'exception des vaches tarées ou dont le lait n'a pas été mélangé au tank (par exemple suite à une mammité). Il est donc important de répéter les analyses du lait de tank plusieurs fois dans l'année de façon à ce que l'ensemble du troupeau soit testé. Les anticorps ou immunoglobulines se retrouvent dans le lait en concentration environ 10 fois moindre que dans le sérum sanguin. Leur concentration varie également au cours de la lactation, étant plus faible lors du pic de production laitière, par un effet de dilution. En outre, lorsque la prévalence en IBR est faible dans un troupeau, le lait des animaux infectés est dilué par celui des vaches saines. Il est donc important de disposer de tests ELISA suffisamment sensibles permettant la détection de faibles quantités d'anticorps.

Parmi les avantages des tests de dépistage de l'IBR sur le lait de tank par rapport aux tests sérologiques individuels on peut citer :

- la facilité de prélèvement pouvant se faire via les organismes de contrôle laitier
- le faible coût en raison de la diminution du nombre d'échantillons à analyser
- la détection précoce d'une éventuelle contamination d'un troupeau indemne en raison de la répétition des tests régulièrement au cours de l'année (contrairement au bilan sérologique annuel)

L'inconvénient principal est la mauvaise stabilité des échantillons de lait frais qui nécessitent une logistique adaptée pour les acheminer rapidement au laboratoire. L'ajout d'un conservateur à l'échantillon permet éventuellement d'augmenter sa durée de vie. Par ailleurs, une fois écrémé, les échantillons peuvent se conserver sans problème par la congélation.



Conclusions

L'étude menée par le CODA-CERVA a permis de caractériser les différents types de kits ELISA pour le dépistage de l'IBR à partir du lait.

On peut récapituler les caractéristiques globales des 3 catégories de test ELISA de la façon suivante :

		ELISA gE	ELISA gB	ELISA Indirecte
Lait individuel	sensibilité	+/-	++	+++
	spécificité	+ tot +++	+++	++
Lait de tank	sensibilité	-	-	+++
	déteçtabilité	- (>10 to 15%)	+/- (>10%)	+++ (<2%)
	spécificité	+	+++	+++

Légende : +++ excellente / ++ très bonne / + bonne / +/- médiocre / - mauvaise

On constate que globalement les kits ELISA indirect sont très performants pour le dépistage de l'IBR sur le lait de tank dans le cadre de troupeaux non vaccinés et peuvent donc être recommandés pour le maintien des statuts indemnes I4. La sensibilité et la déteçtabilité de l'ELISA indirect sur lait de tank sont bien meilleures que celles obtenues avec un dépistage sérologique annuel sur un échantillon aléatoire d'animaux telle qu'il est prévu dans l'Arrêté Royal IBR : la taille d'échantillon lors du contrôle sérologique est prévue pour détecter une prévalence IBR de 15% alors que l'ELISA indirect sur lait de tank permet, quant à lui, de détecter moins de 2 % de vaches infectées. En outre la répétition des tests sur lait de tank (tous les 2 mois) permet une détection plus précoce d'une éventuelle réinfection du troupeau qu'avec un test sérologique pratiqué seulement une fois dans l'année.

Pour les animaux indemnes de statut I3 (vaccination autorisée), l'ELISA indirect ne convient pas puisqu'il ne permet pas de distinguer les animaux vaccinés des animaux infectés. Les ELISA gE sont peu sensibles sur lait de tank et ne permettent pas de détecter une faible prévalence d'animaux infectés dans un troupeau (déteçtabilité >10 à 15%). Ce manque de sensibilité est en partie compensé par la répétition des tests sur lait de tank tous les deux mois. En effet, en cas de réinfection d'un troupeau indemne, on peut s'attendre à ce que la proportion de vaches infectées dépasse rapidement 15%. En outre, il existe certains procédés de traitement du lait qui permettent d'augmenter la concentration en immunoglobulines des échantillons de lait de tank et améliorent la sensibilité et la déteçtabilité des kits ELISA gE. Grâce à ces procédés la sensibilité obtenue pourrait être meilleure que celle obtenue avec un dépistage sérologique annuel sur un échantillon aléatoire d'animaux tel qu'il est pratiqué actuellement en Belgique.

Dans ces conditions il est recommandé de mettre en place dès que possible une procédure de certification et de contrôle officielle des kits ELISA indirect pour le dépistage de l'IBR sur le lait dans le cadre de la lutte IBR en Belgique. Des contacts ont par ailleurs été pris avec les pays voisins utilisant et contrôlant déjà les kits ELISA IBR sur le lait dans leur programme de lutte officiel, dans le but de faciliter une reconnaissance mutuelle des lots contrôlés au niveau européen.

Contact : brigitte.cay@codacerva.be.

