

Quels prélèvements effectuer lors d'avortements chez les bovins en cas de suspicion de FIÈVRE Q ?



Photo : S. Leitenberger

OBJECTIF DE CETTE FICHE :

Rappeler les modalités diagnostiques de la fièvre Q lors d'avortements en série chez les bovins.

- > Quels animaux ?
- > Quels prélèvements ?
- > Quelles analyses ?



Les derniers résultats du dispositif OSCAR indiquent que la fièvre Q serait impliquée dans environ **10,2%** des séries abortives chez les bovins.¹

"Tous appliquer le même protocole est le meilleur moyen pour régulièrement comparer nos résultats et faire évoluer les modalités du diagnostic. La clé repose sur la combinaison (PCR ET ELISA) et la répétition des analyses lors de tout avortement."

Raphaël GUATTEO - Docteur vétérinaire, professeur en médecine bovine à Oniris, enseignant chercheur en épidémiologie

"Lors d'avortements répétés, une démarche diagnostique rigoureuse conduit plus fréquemment à un résultat exploitable pour la gestion du cas et contribue aussi à démontrer l'importance et l'intérêt de la déclaration des avortements".

Eric COLLIN - Docteur vétérinaire, Président de la commission épidémiologie de la SNGTV

PAROLES D'EXPERTS



Quels animaux prélever, quels prélèvements et quelles analyses ?

Les études menées dans les élevages avec avortements imputables à la fièvre Q montrent que la/les vache(s) ayant avorté peuvent être encore séronégatives au moment de l'avortement, la séroprévalence au sein du troupeau est en revanche le plus souvent élevée².

Il est donc préférable de combiner PCR et ELISA, selon les animaux concernés :

- Recherche directe de *Coxiella burnetii* par PCR sur écouvillon sur la/les vache(s) ayant avorté depuis moins de 7 jours
 - Réalisation de sérologie (méthode ELISA) sur un minimum de 6 congénères à problèmes de reproduction + la/les femelle(s) avortée(s) pour mise en évidence d'anticorps
- > Pour maximiser la valeur prédictive positive : prélever, pour les sérologies, en priorité des animaux présentant des troubles de la reproduction (non délivrance, endométrites, infertilité). Ne pas prélever de génisses ou d'animaux ascendants-descendants.

Voir également la fiche « Quand suspecter la fièvre Q chez les bovins ? » (+ lien)

À partir de quand privilégier la sérologie à la PCR ?

Les résultats d'études menées en caprins et bovins montrent que la détection de *Coxiella burnetii* par PCR sur écouvillon vaginal diminue très fortement dans la semaine suivant l'avortement. Ainsi moins d'un tiers des animaux positifs le jour de l'avortement le seront encore 7 jours après².

- > En pratique on conseille de réaliser des écouvillons endo-cervicaux pour PCR jusque 5 à 7 jours post-avortement (idéalement dans les 48 heures). Au-delà, les sérologies seront préférées.

Quels prélèvements effectuer ?

Du sang et des produits issus de l'avortement

Sur la vache ayant avorté depuis moins de 5 à 7 jours, le(s) prélèvement(s) sont (selon la préférence de votre LVD) :

- **L'écouvillon endocervical**, le plus rapidement possible après l'avortement. La bactérie étant intracellulaire, il est important de bien frotter le col et l'endomètre pour avoir des cellules. Recueillir du liquide n'est pas intéressant.
- **Le prélèvement de placenta**. Pour améliorer la qualité, il est possible de prélever directement des houppes cotylédonaires et le laboratoire réalisera directement les écouvillons.
- **Le prélèvement de liquide stomacal chez l'avorton**.

- > Dans tous les cas, les prélèvements doivent être conservés et envoyés sous couvert du froid positif (+4°C), le plus rapidement possible (dans les 24 heures si possible).

Et le lait de tank ? La réalisation d'une PCR sur lait de tank n'a pas d'intérêt pour le diagnostic des avortements, du fait d'une non-concomitance d'excrétion entre la voie vaginale et le lait.

> La valeur prédictive positive ou négative d'un lait de tank positif pour le diagnostic d'un avortement est médiocre.

ASTUCE

Disposer de deux PCR positives au sein d'un même troupeau est un prérequis idéal pour confirmer l'implication de *Coxiella burnetii* dans les avortements. Mais dans la pratique, seul l'animal faisant l'objet de la visite est prélevé et on ne dispose pas d'une deuxième PCR.

Pour disposer de deux résultats PCR, le stockage de l'écouvillon endocervical prévu pour le dépistage de la brucellose est la clé. 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 s'il n'est pas utilisé pour le diagnostic de la brucellose (en cas de sérologie brucellose négative, cas le plus fréquent), il peut l'être pour d'autres maladies, s'il est conservé congelé. Ainsi, on réalise un écouvillon dès la première visite et lors de la deuxième, qui déclenche les recherches complémentaires, on ressort le premier écouvillon en vue de la réalisation des deux PCR nécessaires.



Photo : paul_burns



Photo : Fxquadio

Les prélèvements sont faits... quelle interprétation des résultats ?

Afin de faciliter l'interprétation des résultats, une grille d'interprétation combinant PCR et ELISA est proposée dans le cadre du protocole OSCAR. Elle comporte différents niveaux d'imputabilité :

Imputabilité	Résultats
Peu probable (≈0) on considère alors que la série abortive n'est pas due à <i>Coxiella burnetii</i> . Néanmoins, si d'autres avortements surviennent, la recherche doit toujours être effectuée.	- 2 résultats d'analyse PCR sur écouvillon < LD (limite de détection) ou/et 2 PCR sans résultat « DéTECTÉ » ^[a] sur organe ou liquide stomacal des avorton(s) <u>ou</u> - 1 résultat d'analyse PCR sur écouvillon < LD et moins de 3 vaches séropositives ^[b]
Possible (++) on considère, mais pas de façon certaine, que la série abortive peut être associée à <i>Coxiella burnetii</i> . L'interprétation est alors à faire selon les résultats des autres analyses effectuées.	- 1 résultat d'analyse PCR > 10 ⁴ bactéries (analyse individuelle sur écouvillon) ou 1 résultat d'analyse PCR > 10 ³ bactéries (analyse de mélange (cotylédons du placenta)) ou 1 PCR avec détection d'ADN cible (organe ou liquide stomacal d'avorton) ^[c] <u>et</u> - Moins de 3 vaches séropositives ^[d]
Forte (+++) on considère que la série abortive est liée à <i>Coxiella burnetii</i>	- 2 résultats d'analyses PCR > 10 ⁴ bactéries par écouvillon ou/et 2 PCR > 10 ³ bactéries (analyse de mélange (cotylédons du placenta)) ou/et 2 PCR avec détection d'ADN cible (organe ou liquide stomacal des avorton(s)) ^[e] <u>ou</u> - 1 résultat d'analyse PCR > 10 ⁴ bactéries (analyse individuelle sur écouvillon) ou 1 résultat d'analyse PCR > 10 ³ bactéries (analyse de mélange (cotylédons du placenta)) ou 1 PCR avec détection d'ADN cible (organe ou liquide stomacal d'avorton) et 3 vaches ou plus séropositives ^[f]
Non conclusif les analyses réalisées ne permettent pas de conclure, notamment du fait d'un nombre de prélèvements insuffisants ou non pertinents Investigations complémentaires à mener le cas échéant	Toutes les autres situations

Niveaux d'imputabilité des avortements à *Coxiella burnetii* selon les résultats obtenus (source : Protocole OSCAR)

> L'observance du protocole de diagnostic (PCR et sérologies) est fondamentale.
 En pratique, les protocoles sont trop souvent non conclusifs (près d'un tiers des cas en 2020) du fait d'un nombre insuffisant ou non adapté de sérologies.

Quels prélèvements effectuer lors de suspicion de FIÈVRE Q chez les bovins ?

5,7%

C'est le nombre de séries abortives jugées non conformes du fait d'un manque de prélèvements sur congénères (bilan OSCAR 2020).



Photo : Rungruee

Références du tableau

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

[b] Sur un nombre de vaches prélevées compris entre 3 (minimum) et 6.

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

[d] 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%.

[e] PCR + c'est-à-dire ayant un résultat > à la LD en PCR quantitative ou un résultat « DéTECTÉ » en PCR qualitative ou relative.

[f] 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%.

L'interprétation fondée sur le résultat quantitatif de la PCR : ce qu'il faut retenir

Un seuil de positivité (10^4 bactéries par écouvillon endocervical, 10^3 si l'écouvillon est pratiqué directement sur le placenta) est requis pour considérer l'avortement imputable à *Coxiella burnetii*.

En pratique

En pratique, l'interprétation fondée sur ce seuil quantitatif peut se heurter à plusieurs problèmes.

- Si le délai avortement-prélèvement ou le délai prélèvement-analyse s'allongent ou que les conditions de conservation ou d'envoi des prélèvements sont imparfaites, le risque de perte "en charge" est réel du fait de la rapide décroissance de l'excrétion après l'avortement.
- En comparaison aux petits ruminants, les quantités excrétées par les bovins sont plus fréquemment plus faibles.
- Si le seuil de 10^4 sur écouvillon ou 10^3 sur mélange de cotylédons favorise la spécificité, en revanche il diminue la sensibilité^[5].
- Si la charge détectée est inférieure au seuil, avec des délais de plusieurs jours entre l'avortement et la réalisation de l'écouvillon, le risque est de considérer "à tort" que le résultat est négatif, alors qu'il atteste tout de même d'une excrétion de bactéries.

Pourquoi ce seuil...

- Une situation en 2005-2009 sensible en France (épisode de cas humains groupés à Chamonix) et ailleurs (épidémie de cas humains aux Pays-Bas, près de 3000 hospitalisations). D'où la volonté de ne pas manquer des épisodes cliniques « certains » tout en évitant de déclarer cliniquement atteints tous les élevages infectés puisque la circulation à bas bruit de *Coxiella* dans les élevages de ruminants est réelle et facile à mettre en évidence par PCR.
- Des données issues d'une infection expérimentale chez les ovins menée à l'INRA en 2005, pour lesquelles une très forte dose ($5 \cdot 10^4$ à $2 \cdot 10^5$ *Coxiella*) avait été utilisée en inoculation sous-cutanée^[3]. Chez les petits ruminants, les quantités excrétées lors d'avortements sont massives (plusieurs millions à milliards de germes) ce qui n'est pas forcément le cas chez les bovins.
- En conséquence, l'ACERSA a ainsi défini « à-dire-d'experts » la positivité de toute PCR individuelle fièvre Q sur un prélèvement de placenta à 10^4 bactéries sur écouvillon endocervical, puis récemment à 10^3 bactéries sur un mélange poolé de 3 écouvillonnages en 3 endroits différents du placenta (ou 3 écouvillons de 3 animaux différents en petits ruminants) pour tous les ruminants, bovins y compris^[4].



Photo : Léna Constantin

Et si on ne dispose que d'un seul résultat PCR positif mais inférieur au seuil clinique ?

Deux situations se présentent :

- Soit on dispose des résultats de sérologies concomitantes effectuées sur des vaches à problème, auquel cas l'imputation est possible selon les résultats combinés de la PCR et des sérologies effectuées.
- Soit on ne dispose que du résultat PCR (positif mais inférieur au seuil clinique). Il conviendrait alors de ne pas rejeter à ce stade l'hypothèse de fièvre Q, de rechercher une éventuelle séroconversion ou, si les avortements perdurent, de se mettre dans de meilleures conditions pour prélever des écouvillons pour une deuxième PCR.

Bien s'assurer avec son laboratoire que ces résultats PCR positifs mais inférieurs à la LQ (limite de quantification) sont tout de même renseignés comme positifs pour pouvoir analyser la situation correctement.

> Dans tous les cas, c'est bien la combinaison de tests (PCR ET ELISA) voire leur répétition qui permettent de consolider le diagnostic.

Références

- [1] Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants - Bilan 2020 - Plateforme nationale d'épidémiologie en santé animale, mars 2021.
- [2] Guatteo R, Joly A, Beaudeau F. 2012. Shedding and serological patterns of dairy cows following abortions associated with *Coxiella burnetii* DNA detection. *Vet Microbiol.* 2012 23;155(2-4):430-3. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.09.026.
- [3] BENIZEAU E. (2006). Etude de l'innocuité du vaccin Coxevac® et mise en place d'une étude expérimentale de son efficacité chez la brebis. Thèse de doctorat vétérinaire. Nantes : Faculté de médecine, 110 p.
- [4] Laboratoire National de Référence Fièvre Q, Expression des résultats PCR (temps réel) pour la recherche de *C. burnetii* dans le diagnostic de d'avortement chez les ruminants, Note de décision pour les résultats proche du seuil « clinique », 26 octobre 2017, Biot, 4 p.
- [5] Guéroux S, Nicolle P, Menudier N., Guatteo R. 2018. Valeur informative de la qPCR dans le diagnostic des avortements répétés chez les bovins : retour sur le choix d'un seuil d'interprétation pour le diagnostic de la fièvre Q. in *Proceeding Journées Nationales des GTV*. Nantes, 2018.



> **Autres fiches pratiques du Comité fièvre Q :**

Vétérinaires

- Quand suspecter la fièvre Q chez les bovins ?
- Quand suspecter la fièvre Q chez les petits ruminants ?

Éleveurs

- Quand suspecter la fièvre Q chez les petits ruminants ?
- Quand suspecter la fièvre Q chez les bovins ?
- Gestion des risques zoonotiques et accueil du public dans les exploitations



> **Sources d'information utiles sur la fièvre Q :**

- [Fièvre Q - Mieux la connaître \(GDS France\)](#)
- [Dispositif OSCAR – Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants](#)
- [Plateforme ESA – Epidémiosurveillance santé animale](#)



Comité FIÈVRE Q



www.comitefièvreq.com

Les experts du Comité fièvre Q souhaitent contribuer à la lutte contre cette maladie en France en favorisant l'accès des professionnels à des recommandations concertées en matière de diagnostic et de maîtrise. Complexe et méconnue, très répandue dans les élevages de ruminants, la fièvre Q a en effet des conséquences non négligeables pour la santé animale, les performances des troupeaux et la santé humaine. Le comité fièvre Q, présidé par le Pr Raphaël Guatteo et par le Dr Christophe Brard, a été créé en janvier 2020 avec le soutien institutionnel de Ceva Santé Animale.

LA COMPOSITION DU COMITÉ EN 2021: Dr Christophe Brard, Docteur vétérinaire, Président du Conseil d'Administration de la SNGTV • Pr Raphaël Guatteo, Docteur vétérinaire, professeur en médecine bovine à Oniris, enseignant chercheur en épidémiologie • Dr Kristel Gache, Docteur vétérinaire, épidémiologiste, GDS France, animatrice du groupe d'investigation "fièvre Q" de la Plateforme ESA • Dr Renée de Crémoux, Docteur vétérinaire, Chef de projet Recherche et Développement au Département Qualité des Produits, Bien-Être et Santé, Institut de l'Élevage • Dr Eric Collin, Docteur vétérinaire, Président de la commission épidémiologie de la SNGTV.