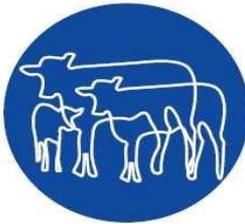


# Journée UMT Santé des Bovins

## LES NOUVEAUX OUTILS POUR LA SURVEILLANCE DE LA DICTYOCAULOSE CHEZ LES BOVINS LAITIERS ADULTES

UMT  
MAITRISE  
DE LA SANTÉ  
DES TROUPEAUX  
BOVINS



C. Chartier<sup>1</sup>, E. Louvet<sup>1</sup>, G. Murigneux<sup>1</sup>, M. Pellerin<sup>1</sup>,  
A. Lehebel<sup>1</sup>, Ph. Camuset<sup>2</sup>, H. Ploeger<sup>3</sup>, C. Strube<sup>4</sup>

<sup>1</sup>LUNAM Université, ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation. Nantes Atlantique,  
UMR 1300 BioEpAR INRA, BP 40706, F-44307 Nantes Cedex 3

<sup>2</sup>Commission Parasitologie SNGTV, Clinique Vétérinaire, 24 rue Carnot F-76190 Yvetot

<sup>3</sup>Institute for Parasitology, University of Veterinary Medicine, Hannover, Allemagne

<sup>4</sup>Department of Infectious Diseases and Immunology, Veterinary Faculty, Utrecht, Pays-Bas



- *Dictyocaulus viviparus*

= strongylose respiratoire des bovins

– Jeunes bovins en première saison de pâturage

– Bovins adultes : diagnostic différentiel de la « toux d'été »

– Importance économique mal évaluée et épidémiologie « peu prédictible »



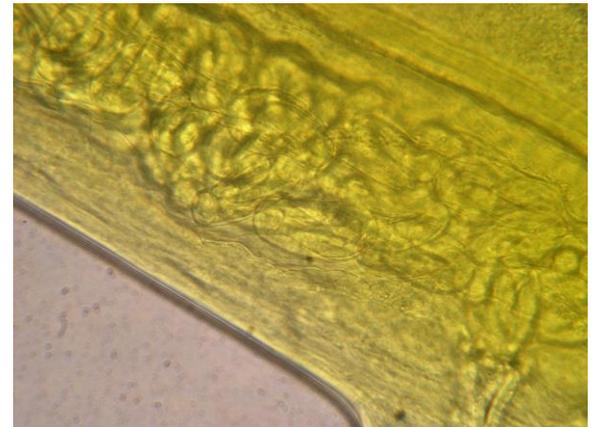
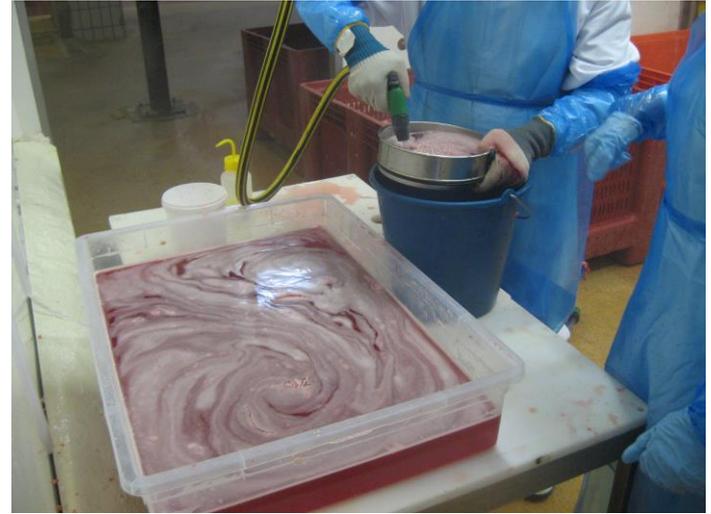
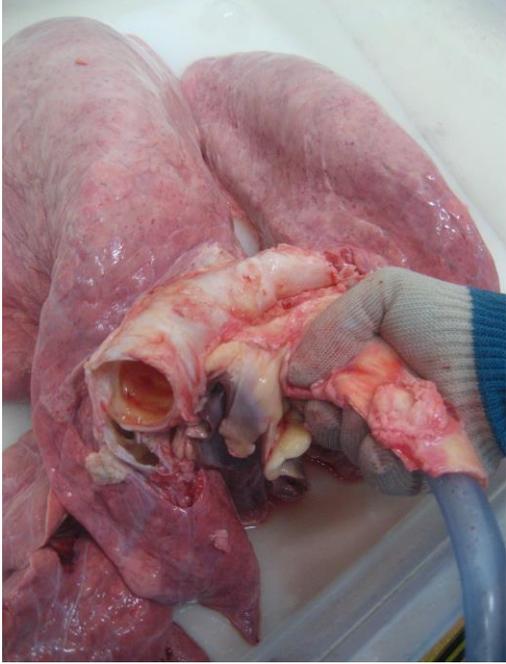
*Pas d'informations précises en France concernant le portage des bovins adultes et l'utilisation des outils sérologiques*

# Objectifs des différentes études

1. Estimation du portage de *D. viviparus* par les vaches laitières à l'abattoir
2. Étude longitudinale (printemps/été) dans un troupeau à risque : dynamique d'excrétion larvaire par les vaches laitières et évaluation d'un outil ELISA sur lait individuel et sur lait de tank
3. Étude longitudinale sur un an dans 15 troupeaux bovins laitiers : évaluation des outils ELISA

# Étude en abattoir (thèse Morgane Pellerin, 2011)

- 100 bovins laitiers adultes du très grand-ouest
- Abattoir de Charal (Cholet) : 25/03 au 13/10/2011
- Récupération des vers (stades larvaires et adultes) par la technique de perfusion de l'artère pulmonaire d'Inderbitzin (Oakley, 1980)
- Récupération d'environ 10 L de lavage après ouverture de la trachée et des bronches
- Tamisage du produit de lavage sur tamis à 45 $\mu$ m
- Conservation à l'alcool 70° puis examen à la loupe binoculaire (X12)
- 3 catégories de vers : adultes (>20 mm), juvéniles (1.5-20 mm), stades inhibés (<1.5 mm) (Eysker et al. 1990)



# Étude en abattoir : résultats

- Bovins de race Prim'Hostein, Montbéliarde, Normande ; 3.5 à 14 ans (moyenne 7.8 ans)
- Origine : 45% Pays-de-la-Loire, 15% Bretagne
- Identification : *Dictyocaulus viviparus*

- Prévalence apparente :  $13.0 \pm 6.7\%$
  - Charge parasitaire :  $5.8 \pm 7.6$  vers
  - Stades : 0% inhibés ; 87.7% juvéniles ; 12.3% adultes
- >>> technique de récolte/lecture peu performante pour les stades inhibés

# Étude en abattoir : conclusion

- **Première estimation du portage des dictyocauls par les vaches laitières adultes en France**
  - la valeur de 13% est une estimation minimale
  - valeur supérieure en général aux données de la littérature
  - charges faibles et peu de stades adultes (intérêt de la coproscopie pour détecter le portage?)

# Étude longitudinale dans un élevage à risque (thèse Gaetan Murigneux, 2012)

- Élevage de vaches normandes en Seine Maritime confronté régulièrement à de la dictyocaulose sur adultes (traitement Eprinex à l'automne 2011)
- Génisses pâturant sur parcelles spécifiques éloignées des adultes
- Introduction des nullipares au troupeau d'adultes 3 semaines avant vêlage (pas de traitement anthelminthique lors du suivi)
- 50 vaches suivies du 15/03 au 13/07/2012 (46% primipares)
  - Coproscopie individuelle tous les 15 jours
  - Prélèvement de lait individuel et de tank tous les mois
  - Mise à l'herbe : 22/03/2012
  - Prélèvements d'herbe négatifs en mars et avril (absence de L3)



5 mL



X 40

### **Technique coproscopique :**

Baermann de type McKenna, 30 g fèces, toile 31 $\mu$ m, 20h (Ploeger) ; résultats exprimés en L1/30 g fèces



### **Technique ELISA :**

antigène recombinant « Major Sperm Protein » (MSP) (von Holtum et al., 2008)  
techniques sur lait ou sérum avec une Se >99% et une Spe >95.5% (expé)  
(Fiedor et al., 2009)  
résultats exprimés en ratio de densité optique (ODR)\*

\* *DO échantillon-DO blanc/DO contrôle positif-DO blanc*

# Caractéristiques de l'excrétion de L1 de *D. viviparus* pour 50 vaches d'une exploitation en Haute-Normandie

## Date de prélèvements

	19/03/2012	02/04/2012	16/04/2012	30/04/2012	14/05/2012	28/05/2012	11/06/2012	25/06/2012	09/07/2012
Effectif	50	50	50	50	49	49	49	48	47
Nombre instantané d'excrétrices	3	3	2	1	2	1	2	13	10
Prévalence apparente instantanée (%)	6,0	6,0	4,0	2,0	4,1	2,0	4,1	27,1	21,3
Nombre cumulé d'excrétrices		4	5	5	7	8	10	18	19
Prévalence cumulée (%)		8,0	10,0	10,0	14,3	16,3	20,0	37,5	40,4
Intensité d'excrétion ± écart-type (en L1/30 g de fèces)	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0	2,0 ± 1,4	2,0	1,0 ± 0	1,0	1,0 ± 0	4,8 ± 5,4	11,3 ± 15,9



# Caractéristiques de l'excrétion de L1 de *D. viviparus* pour 50 vaches d'une exploitation en Haute-Normandie

## Date de prélèvements

	19/03/2012	02/04/2012	16/04/2012	30/04/2012	14/05/2012	28/05/2012	11/06/2012	25/06/2012	09/07/2012
Effectif	50	50	50	50	49	49	49	48	47
Nombre instantané d'excrétrices	3	3	2	1	2	1	2	13	10
Prévalence apparente instantanée (%)	6,0	6,0	4,0	2,0	4,1	2,0	4,1	27,1	21,3
Nombre cumulé d'excrétrices		4	5	5	7	8	10	18	19
Prévalence cumulée (%)		8,0	10,0	10,0	14,3	16,3	20,0	37,5	40,4
Intensité d'excrétion ± écart-type (en L1/30 g de fèces)	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0	2,0 ± 1,4	2,0	1,0 ± 0	1,0	1,0 ± 0	4,8 ± 5,4	11,3 ± 15,9

# Caractéristiques de l'excrétion de L1 de *D. viviparus* pour 50 vaches d'une exploitation en Haute-Normandie

## Date de prélèvements

	19/03/2012	02/04/2012	16/04/2012	30/04/2012	14/05/2012	28/05/2012	11/06/2012	25/06/2012	09/07/2012
Effectif	50	50	50	50	49	49	49	48	47
Nombre instantané d'excrétrices	3	3	2	1	2	1	2	13	10
Prévalence apparente instantanée (%)	6,0	6,0	4,0	2,0	4,1	2,0	4,1	27,1	21,3
Nombre cumulé d'excrétrices		4	5	5	7	8	10	18	19
Prévalence cumulée (%)		8,0	10,0	10,0	14,3	16,3	20,0	37,5	40,4
Intensité d'excrétion ± écart-type (en L1/30 g de fèces)	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0	2,0 ± 1,4	2,0	1,0 ± 0	1,0	1,0 ± 0	4,8 ± 5,4	11,3 ± 15,9

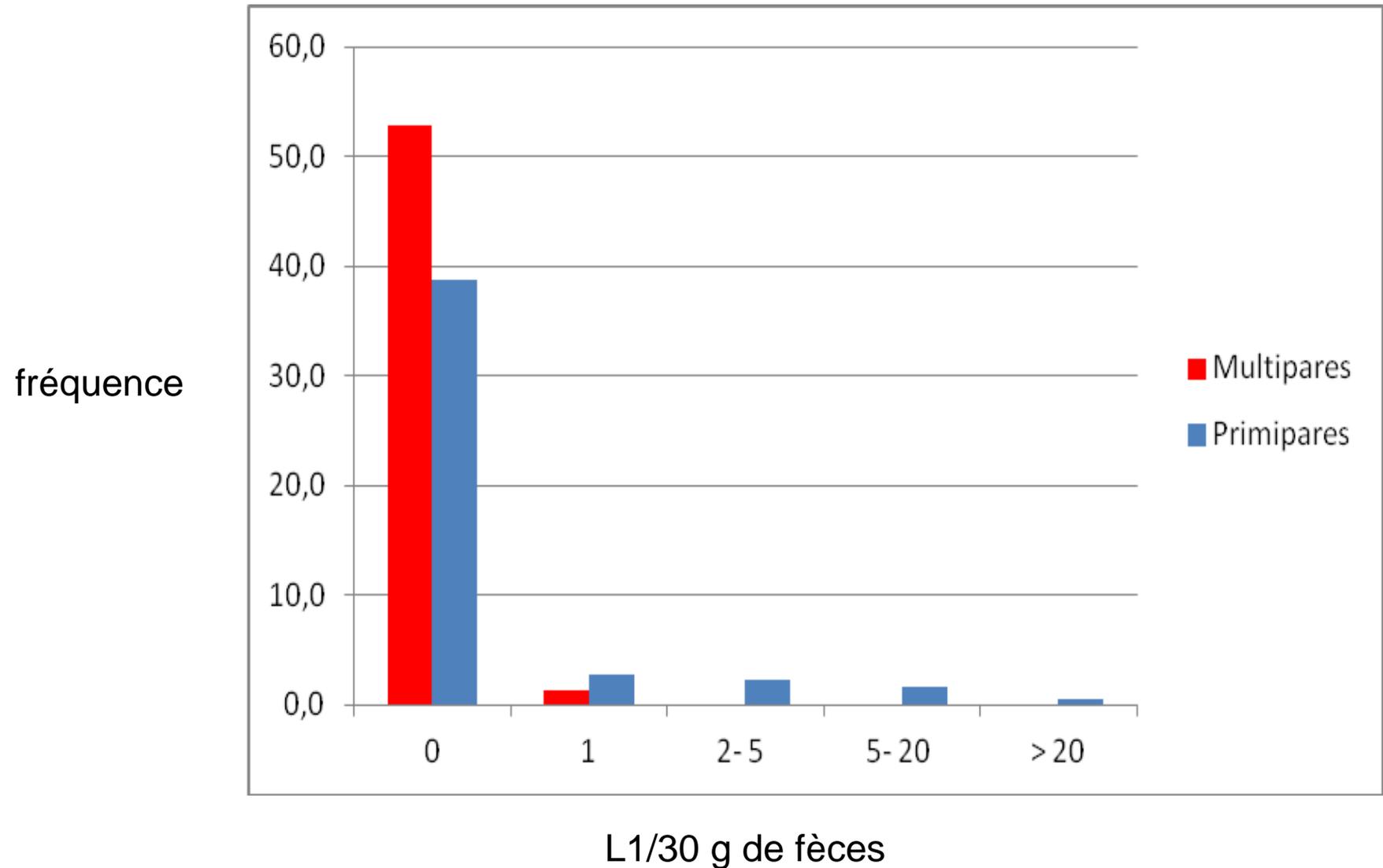
Apparition des signes cliniques

fin juin : modéré

mi-juillet : 20 % du troupeau

début août : traitement du troupeau et disparition de la toux

Distribution des valeurs coproscopiques (L1/30g de fèces) en fonction de la parité sur la période d'étude (n=442 observations ou animaux/dates de prélèvement) (chi-deux,  $p < 0.01$ )



**Sur 19 excrétrices : 15 sont des primipares**

Valeurs d'ODR individuels et de mélange sur la période fin d'hiver-début d'été  
ELISA MSP

Date de prélèvements

	21/03/2012	25/04/2012	31/05/2012	02/07/2012
Moyenne des Primipares	0,096 ± 0,086	0,121 ± 0,173	0,138 ± 0,204	0,384 ± 0,245
Moyenne des Multipares	0,178 ± 0,080	0,107 ± 0,060	0,141 ± 0,121	0,153 ± 0,136
Moyenne globale ± écart type	0,108 ± 0,083	0,106 ± 0,124	0,140 ± 0,162	0,259 ± 0,225
Tank	0,109	0,138	0,127	0,301

Valeurs d'ODR plus élevées en période 4 ( $P < 0.01$ )

Valeurs d'ODR plus élevées chez les primipares ( $P < 0.01$ )

Interaction entre les 2 facteurs ( $P < 0.01$ )

# Valeurs d'ODR individuels et de mélange sur la période fin d'hiver-début d'été ELISA MSP

## Date de prélèvements

	21/03/2012	25/04/2012	31/05/2012	02/07/2012
Moyenne des Primipares	0,096 ± 0,086	0,121 ± 0,173	0,138 ± 0,204	0,384 ± 0,245
Moyenne des Multipares	0,178 ± 0,080	0,107 ± 0,060	0,141 ± 0,121	0,153 ± 0,136
Moyenne globale ± écart type	0,108 ± 0,083	0,106 ± 0,124	0,140 ± 0,162	0,259 ± 0,225
Tank	0,109	0,138	0,127	0,301

Valeurs d'ODR plus élevées en période 4 ( $P < 0.01$ )

Valeurs d'ODR plus élevées chez les primipares ( $P < 0.01$ )

Interaction entre les 2 facteurs ( $P < 0.01$ )

# Relations ELISA MSP et coproscopies ; étude de différents seuils en ELISA MSP

## Relation significative entre ODR et LPG

Excrétion < 1L1/30 g	Excrétion >1 L1/30 g
ODR = 0.125±0.136	ODR=0.400±0.136

ELISA ODR <0.573	ELISA ODR > 0.573
L/30 g =0.15±0.73	L/30 g = 4.89±0.68

## Différents seuils d'ODR proposés dans la littérature

ODR tank : 0.493 (Fiedor et al., 2009) ou 0.41 (Schunn et al., 2012)

ODR individuel : 0.573 (Fiedor et al., 2009)

## Différents seuils individuels testés dans notre étude

dépend des objectifs

agrément total autour de 80% entre coproscopie et ELISA mais kappa faible (discordances LPG + ELISA – , moins souvent l'inverse)

# Étude longitudinale dans un élevage à risque : discussion

- **Dynamique d'excrétion larvaire en situation d'enzootie**
  - Faible prévalence (2-6%) et faible intensité d'excrétion (1-2 L/30g) en sortie d'hiver et au printemps mais seule source de parasites objectivée
  - Recyclage à bas bruit jusqu'en juin (température+ précipitations) : augmentation brutale ensuite
  - Importance essentielle des conditions météorologiques d'hiver et de printemps

- **Contribution majeure des primipares**
  - 15 excrétrices sur les 19 ; intensité d'excrétion + forte
  - Pâtures spécifiques pour les génisses de 1<sup>ère</sup> année
  - Facteur clé dans le recyclage (confirme les données de Ploeger et al., 2012)
- **Toux apparaissant lors de la forte circulation parasitaire** : période à risque juillet-octobre

## • Intérêt de l'outil ELISA MSP

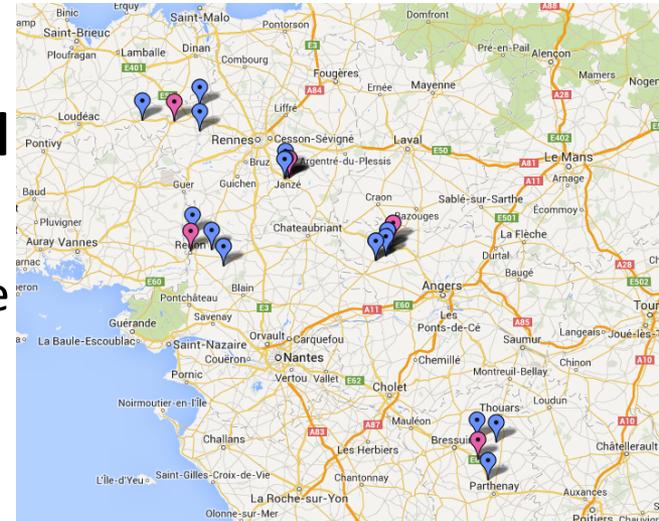
- Bonne cohérence globale avec coproscopie et entre lait de tank et lait individuel
- Approche lait de tank à rapprocher des données allemandes ou néerlandaises : seuil de 0.410 permet de détecter dans 100% des cas une prévalence individuelle (séro) supérieure à 20%
- Couplage le lait de tank avec les laits (ou les sérums) individuels effectués sur les animaux les plus infestés à savoir les primipares
- Problème du timing du prélèvement pour ELISA et de la rapidité de survenue des excréctions fortes et de la clinique

# Étude longitudinale sur une année dans 15 élevages (thèse Elsa Louvet, 2014)

- **Étude longitudinale avec le réseau Cristal**
  - 15 exploitations de l'Ouest
    - 4 sans historique de bronchite vermineuse

- **Objectif**

- Évaluer l'intérêt de l'ELISA MSP sur lait de tank et sur sérums de primipares en relation avec les manifestations cliniques enregistrées par l'éleveur sur une année complète



Numéro d'étude	Code postal	Cabinet Vétérinaire	Troubles respiratoires été/automne sur VL	Effectif troupeau laitier (VL en lactation)	Pourcentage de Primipares	Taux de renouvellement (en %)	Niveau de production (kg de lait/VL/an)
1	49500	Segré	jamais	42	37,00	30,00	9000
2	49440	Segré	occasionnels	82	30,00	30,00	8000
3	49500	Segré	jamais	47	27,70	15,00	7400
4	79330	EVA-Chiché	réguliers	150	30,00	30,00	8000
5	79200	EVA-Chiché	réguliers	200	50,00	50,00	9000
6	79330	EVA-Chiché	réguliers	65	27,69	36,00	7000
7	35750	St Meen	occasionnels	60	30,00	33,00	5607
8	35360	St Meen	occasionnels	100	30,00	30,00	8500
9	22230	St Meen	occasionnels	55	44,00	33,00	8671
10	35150	Janzé	occasionnels	35	25,71	30,00	7800
11	35150	Janzé	jamais	97	36,08	35,00	9800
12	35150	Janzé	jamais	75	40,00	30,00	9900
13	44290	Redon	réguliers	72	35,00	33,33	9300
14	44460	Redon	occasionnels	45	20,00	22,22	7500
15	35600	Redon	réguliers	40	37,50	30,00	5800

## Le suivi longitudinal : janvier à décembre 2013

3 types de période à risque *a priori* :

très faible risque (janvier, février)

faible risque (mars à juin, mi-novembre à décembre)

risque élevé (juillet à mi-novembre)

Période à très faible risque : prélèvement bimestriel

ELISA lait de tank

Période à faible risque : prélèvement mensuel

ELISA lait de tank

Période à risque élevé : prélèvement bimensuel

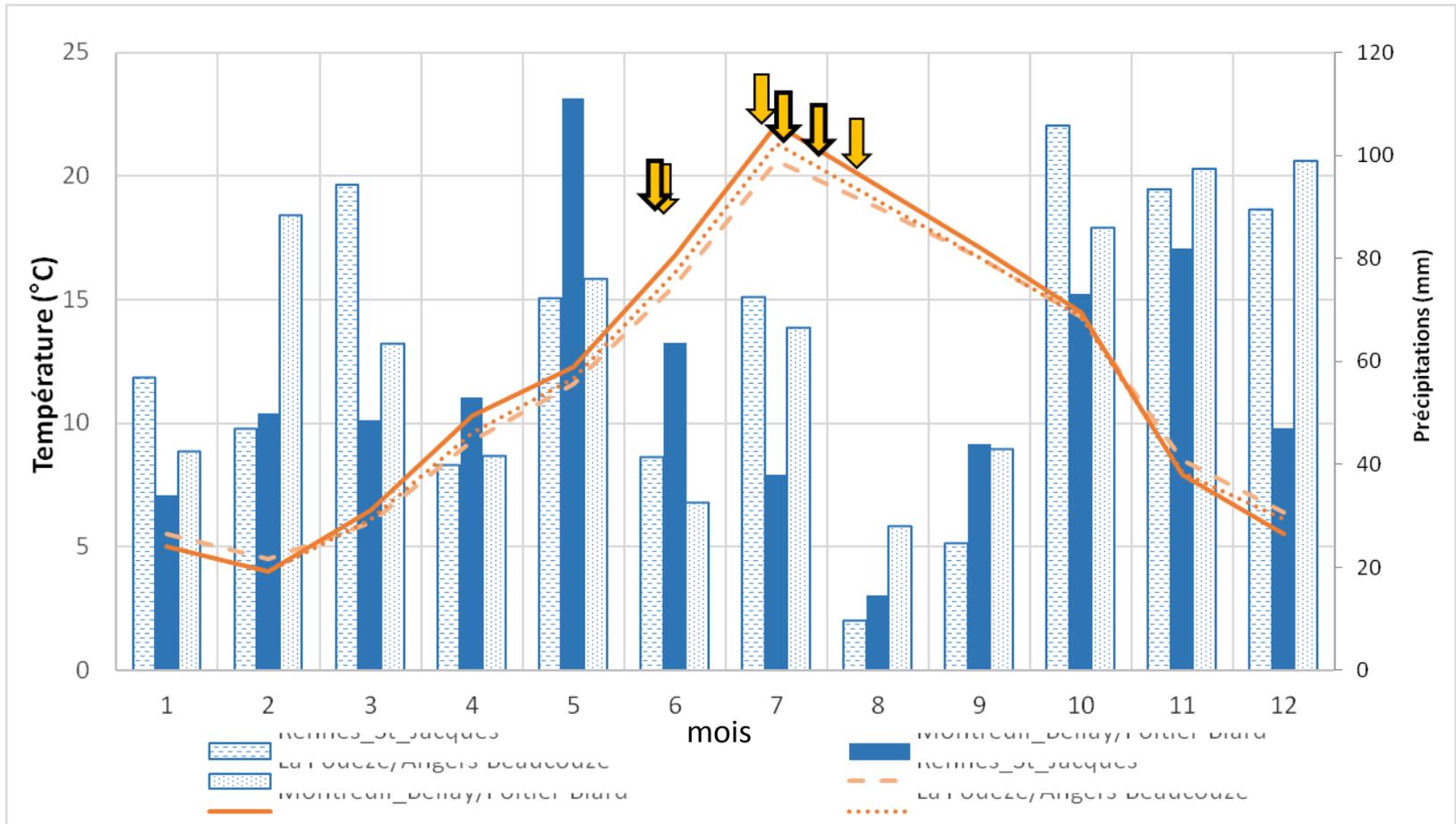
ELISA lait de tank

ELISA mélange 6 sérums de primipares

coproscopie mélange 10 primipares

Lors de cas clinique : coproscopie additionnelle

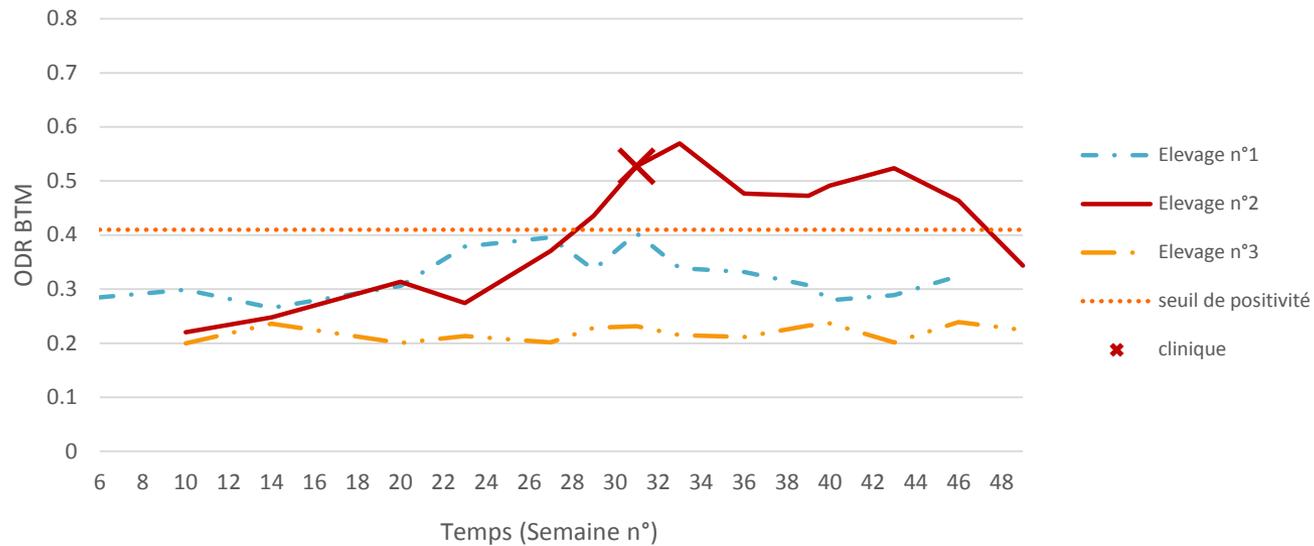
SEM 9			
MARS			
SEM 10	■		
SEM 11			
SEM 12			
SEM 13			
AVRIL			
SEM 14	■		
SEM 15			
SEM 16			
SEM 17			
MAI			
SEM 18	■		
SEM 19			
SEM 20			
SEM 21			
SEM 22			
JUIN			
SEM 23	■		
SEM 24			
SEM 25			
SEM 26			
JUILLET			
SEM 27	■	■	
SEM 28			
SEM 29	■	■	■
SEM 30			
AOUT			
SEM 31	■	■	■
SEM 32			
SEM 33	■	■	■
SEM 34			
SEM 35			
SEPTEMBRE			
SEM 36	■	■	■
SEM 37			
SEM 38	■	■	■
SEM 39			
OCTOBRE			
SEM 40	■	■	■
SEM 41			
SEM 42	■	■	
SEM 43			
SEM 44			
NOVEMBRE			
SEM 45	■	■	
SEM 46			
SEM 47			
SEM 48			



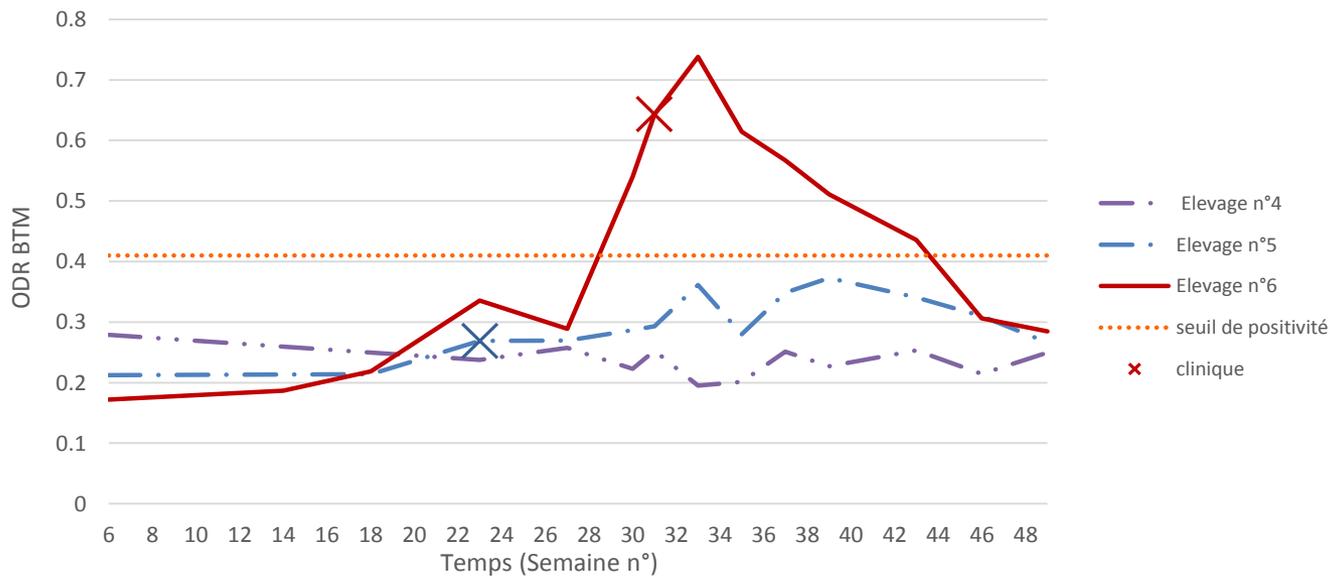
Précipitations et températures moyennes sur 3 postes météorologiques

6 déclaration de cas cliniques (CS+) entre la semaine 23 (début juin) et la semaine 33 (mi-août)

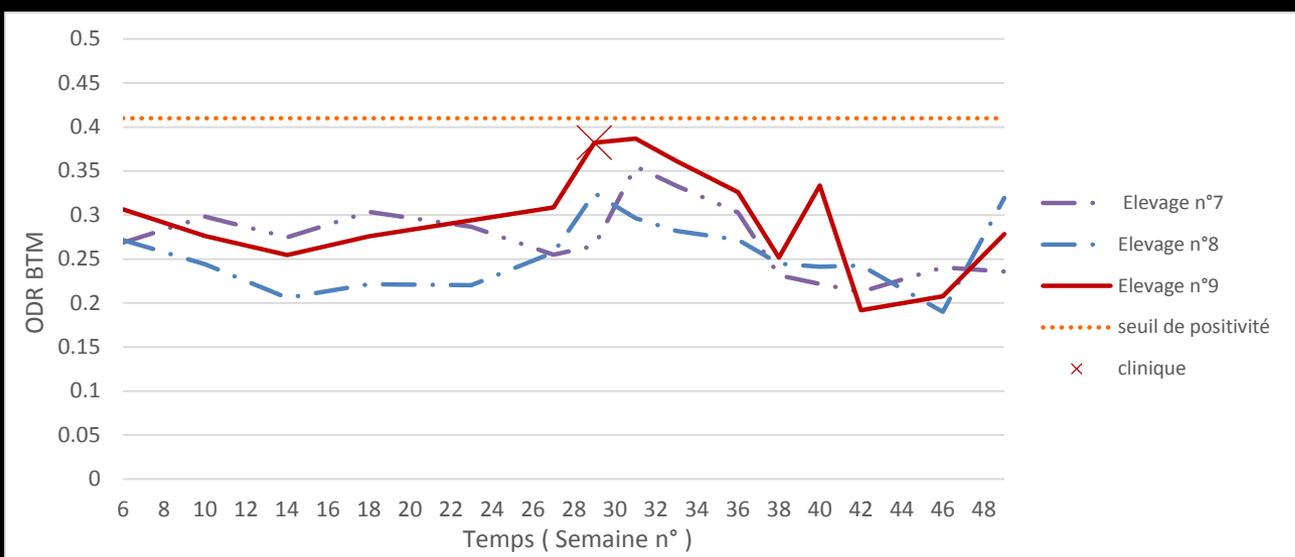
# résultats obtenus avec l'ELISA MSP sur le lait de tank



Résultats/clinique

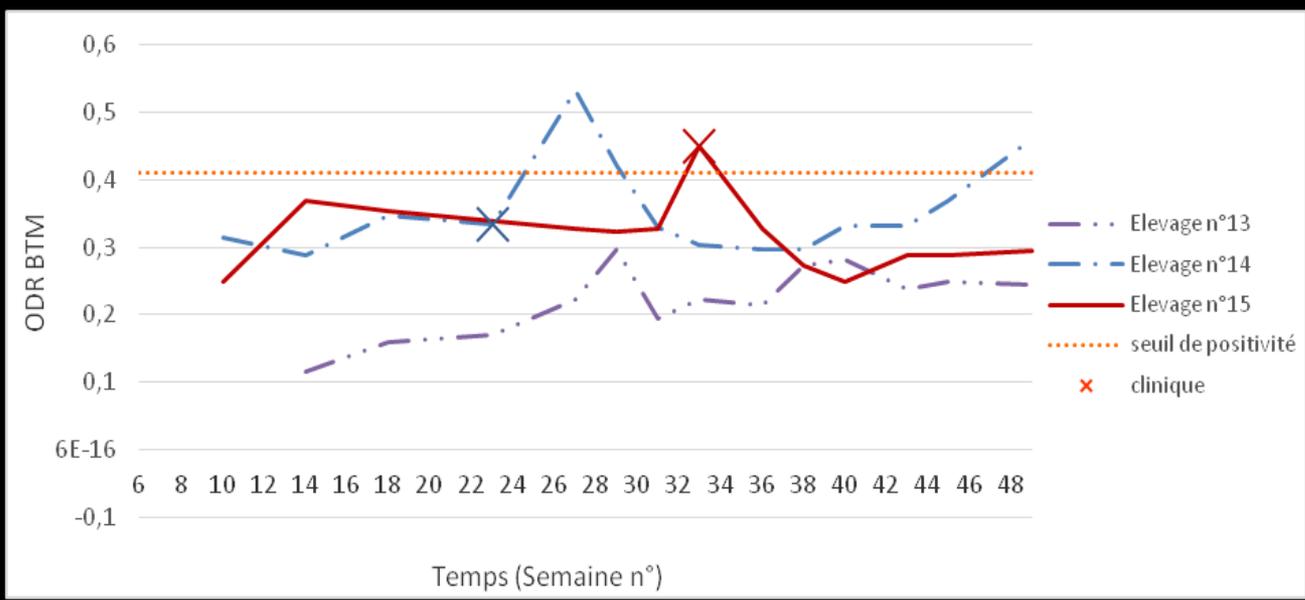


Seuil ELISA lait à 0.410



Résultats/clinique

Seuil ELISA lait à 0.410



Élevages 10, 11, 12 : pas de clinique, valeurs d'ODR < 0.3)

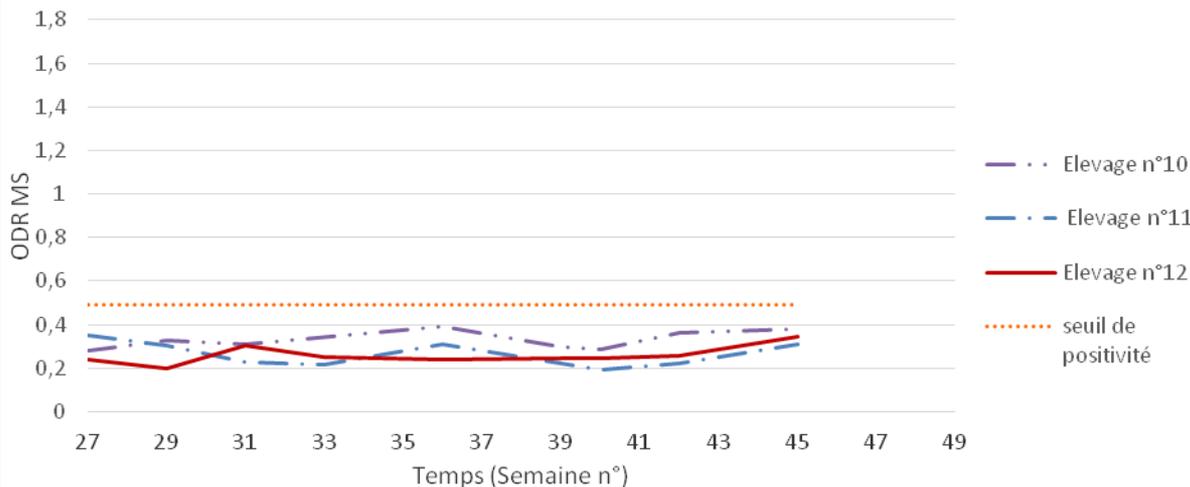
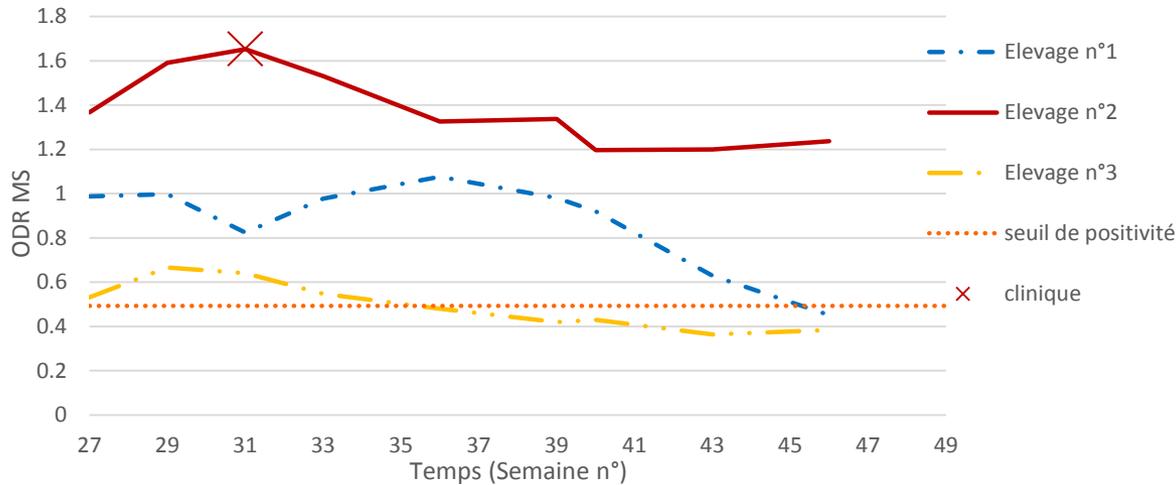
# Bilan des ELISA MSP sur lait de tank

- Lorsque les valeurs sont toujours  $<0.410$ : 11 élevages
  - Valeurs constamment très basses : pas de clinique, ni coproscopie positive (5 élevages)
  - Valeurs fluctuantes avec pics ou augmentation progressive : 6 élevages dont 2 avec clinique et coproscopie positive
- Lorsque les valeurs dépassent 0.41 : 4 élevages
  - Pic en ELISA : clinique et coproscopie positive ; le pic peut suivre la clinique (1 élevage)

Par élevage		
	CS +	CS-
ELISA BTM +	4	0
ELISA BTM -	2	9

*Faible sensibilité >>> modification du seuil*

# ELISA MSP sur les mélanges de sérums de primipares



Période de suivi plus courte

Valeur seuil non validée pour la clinique (0.493)

Fluctuation/variabilité beaucoup plus importantes (6 primipares différentes)

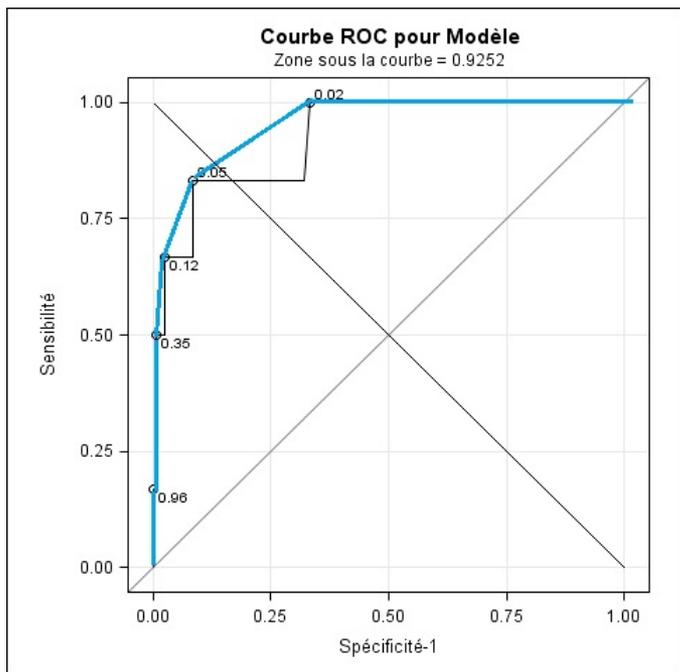
Semble indiquer une intensité de circulation de *Dictyocaulus* (recyclage)

Par élevage		
	CS +	CS-
ELISA MS +	6	5
ELISA MS -	0	4

Numéro d'élevage	Statut clinique	Coproscopie	ELISA BTM	ELISA MS
1	-	-	-	+
2	+	+	+	+
3	-	-	-	+
4	-	+	-	+
5	+	+	-	+
6	+	+	+	+
7	-	-	-	+
8	-	-	-	+
9	+	+	-	+
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+

Bilan du suivi sur les 15 élevages

Par élevage		
	CS +	CS-
ELISA BTM +	4	0
ELISA BTM -	2	9



Approche ROC à partir des 162 analyses de lait de tank disponibles jusqu'à l'apparition des signes cliniques (inclus)

Seuil de 0.335 (au lieu de 0.410)

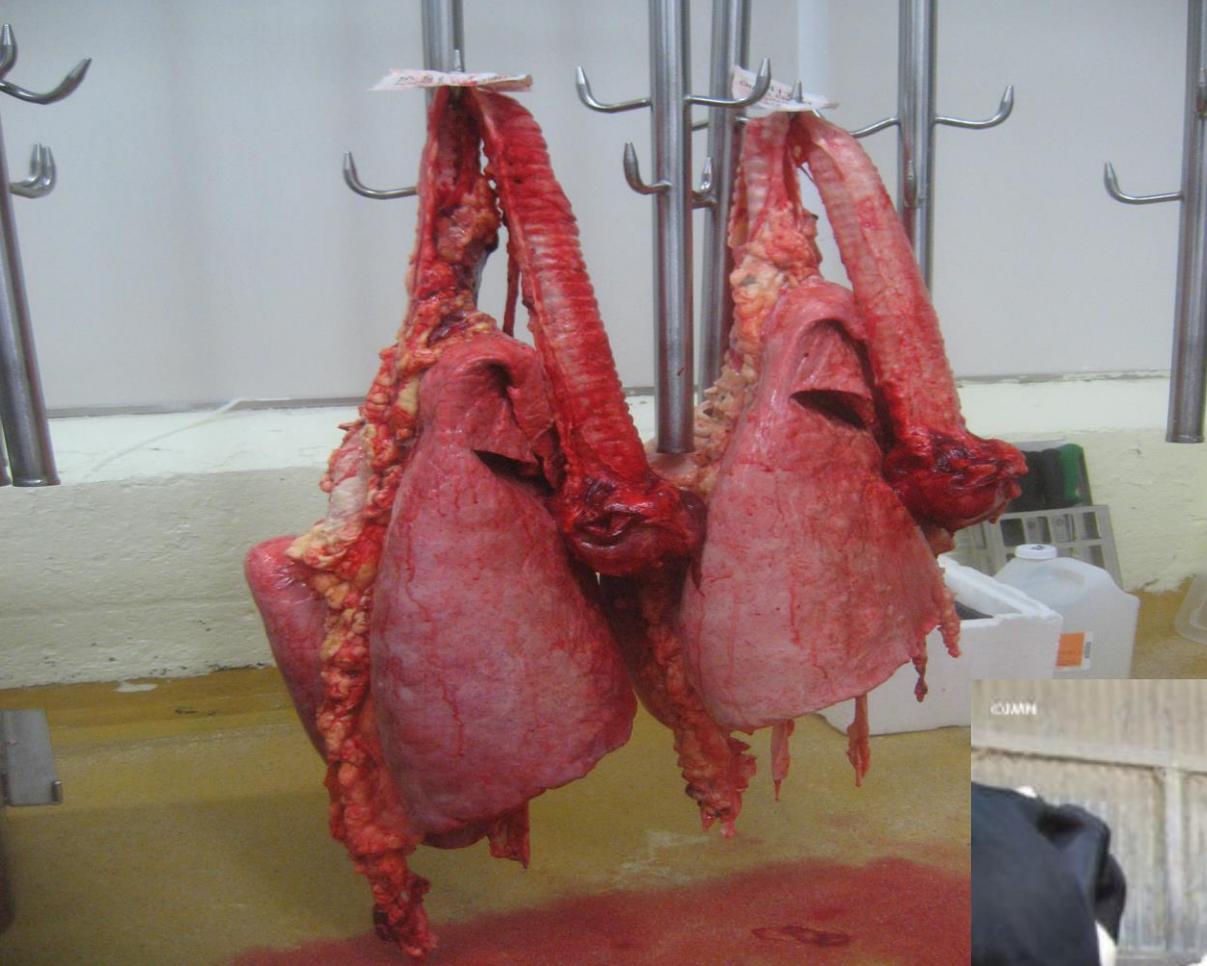
Clinique(Clinique): gold standard				
		non malade	malade	Total
ODR < 0.335 (test négatif)	Effectifs observés	143	1	144
ODR ≥ 0.335 (test positif)	Effectifs observés	13	5	18
Variable	Agrément	Kappa	spécificité	sensibilité
Valeur	91 %	38 %	91 %	83 %

Numéro d'élevage	Statut clinique	Coproskopie	ELISA BTM (0.335)	ELISA BTM (0.410)
1	-	-	+	-
2	+	+	+	+
3	-	-	-	-
4	-	+	-	-
5	+	+	-	-
6	+	+	+	+
7	-	-	+	-
8	-	-	-	-
9	+	+	+	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+

- **Difficultés méthodologiques**
  - Définition d'un cas clinique (nombre, intensité) (Ploeger et al., 2012) : notion de BV « sévère » ; non spécificité de la toux d'été
  - Toux précoce de juin = BV? ; toux non détectée? (élevage 1)
  - Outil coproscopique en condition de terrain (échantillonnage, conservation, technique labo)
  - Période à risque assez étendue (ciblage de la surveillance difficile)
- **Outil ELISA MSP intéressant pour le lait de tank :**
  - Seuil entre 0.335 et 0.410 (Schunn et al., 2012 ; Ploeger et al., 2014)
  - Outil de diagnostic : oui ; de surveillance?
- **Outil ELISA MSP sur primipares :**
  - Met en évidence le recyclage, non suffisant pour avoir de la clinique ; outil de recherche à ce stade

# La suite?

- Approche clinique
- Approche économique
- Étude globale du risque (thèse Rozenn Marchand)



Nos remerciements à :  
Société Charal  
Réseau ExcellVet  
Laboratoire LSI  
Laboratoire Merial  
Réseau Cristal  
Équipe INRA BioEpAR



# Merci de votre attention

## Questions ?

