



HAL
open science

Diagnostic de la fasciolose bovine par sérologie de mélange. Interprétation en conditions de terrain

A Chauvin, E Moreau, C Boulard

► **To cite this version:**

A Chauvin, E Moreau, C Boulard. Diagnostic de la fasciolose bovine par sérologie de mélange. Interprétation en conditions de terrain. *Veterinary Research*, 1997, 28 (1), pp.37-43. hal-00902456

HAL Id: hal-00902456

<https://hal.science/hal-00902456>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Diagnostic de la fasciolose bovine par sérologie de mélange. Interprétation en conditions de terrain

A Chauvin ^{1*}, E Moreau ^{1, 2}, C Boulard ²

¹ Département de pathologie générale, infectieuse et parasitaire,
École nationale vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44037 Nantes cedex 03 ;
² Unité d'immunopathologie des maladies parasitaires, Inra, 37380 Nouzilly

(Reçu le 4 mars 1996; accepté le 25 juin 1996)

Summary — Diagnosis of bovine fasciolosis using serology on pools of sera. Interpretation in field conditions. The efficacy of a serological test (ELISA with excretory-secretory products of *Fasciola hepatica* as an antigen) for the diagnosis of bovine fasciolosis was assessed under field conditions using pools of sera from 170 herds. Blood samples were collected from six to ten heifers and from five to ten adults in each herd. In 92 of the herds (Group 1) the animals had not been treated for fasciolosis; in 78 herds (Group 2), a fasciolicide had been used 3 to 6 months earlier. In each herd, three serum pools were examined: aliquots from all the animals sampled in a herd (GM); aliquots from heifers only (PM); and aliquots from the cows only (PM). Individual sera and the pools (GM and PM) were analyzed similarly and the specific antibody titer was calculated by comparison with laboratory standards. The antibody titer for pooled sera were correlated with the proportion of positive sera in the pool ($P < 0.0001$); but these could not be used to estimate the prevalence of seropositivity in a herd. Diagnosis based on pooled sera was less effective for the detection of low prevalences of seropositivity in Group 2 than in Group 1 because the antibody titer decreases after fasciolicide treatment. Infection was always detected using pooled sera in herds with a prevalence of seropositivity of more than 60% (GM) in Group 1, or with a prevalence of seropositivity of more than 70% in Group 2. The best method for herd diagnosis of fasciolosis was based on the presence of a positive test in either of the two PM groups. Using this method, all infected herds with a prevalence of seropositivity of more than 30% in Group 1, or 50% in Group 2, were accurately detected.

fasciolosis / ELISA / sera pool / excretory-secretory product

Résumé — L'efficacité d'un test sérologique (Elisa avec des produits d'excrétion-sécrétion de *Fasciola hepatica* comme antigène) pour le diagnostic de la fasciolose bovine a été étudiée en

* Correspondance et tirés à part.

Tél : (33) 02 40 68 76 98 ; fax : (33) 02 40 68 77 51 ; courriel : chauvin@vet.nantes.fr

condition de terrain en utilisant des mélanges de sérums provenant de 170 troupeaux, dans lesquels 6 à 10 jeunes et 5 à 10 adultes avaient été prélevés. Dans 92 troupeaux (groupe 1) aucun traitement fasciolicide n'était utilisé ; dans 78 troupeaux (groupe 2) les éleveurs avaient réalisé un traitement fasciolicide 3 à 6 mois auparavant. Dans chaque troupeau, trois mélanges de sérums ont été réalisés : l'un (GM) par mélange d'aliquots de sérums de tous les animaux prélevés dans le troupeau ; les deux autres (PM) par mélange d'aliquots de sérums des jeunes, d'une part, et des adultes, d'autre part. Les taux d'anticorps spécifiques (TAc) des sérums individuels et des mélanges (GM et PM) ont été calculés par rapport à des standards internes au laboratoire. Les TAc des mélanges étaient significativement corrélés à la proportion de sérums positifs dans le mélange ($p < 0,0001$) ; mais le TAc d'un mélange ne peut permettre d'estimer la prévalence de séropositivité d'un troupeau. Le diagnostic sur sérologie de mélange était moins efficace pour la détection des faibles prévalences dans le groupe 2 que dans le groupe 1 en raison de la décroissance des taux d'anticorps après traitement fasciolicide. Tous les troupeaux, ayant une prévalence de séropositivité estimée supérieure à 60 % (GM) dans le groupe 1, ou supérieure à 70 % dans le groupe 2, sont détectés infestés. La stratégie d'interprétation la plus sensible consiste à déclarer l'élevage douvé dès qu'un des deux petits mélanges réalisés est positif ; ainsi tous les troupeaux ayant une prévalence de séropositivité estimée supérieure à 30 % (groupe 1) ou 50 % (groupe 2) sont détectés infestés.

fasciolose / Elisa / mélange de sérums / produits d'excrétion-sécrétion

INTRODUCTION

La fasciolose est une maladie d'élevage liée à l'utilisation par les bovins de pâtures fasciologènes. L'objectif premier d'un diagnostic de troupeau est donc de dépister la présence du parasite dans l'élevage (troupeau douvé). Ainsi la mise en évidence d'une infestation patente, ou de la trace d'une infestation sur des animaux élevés sur l'exploitation, permet de conclure à l'infestation de l'élevage. Dans ce contexte, le diagnostic de troupeau de la fasciolose peut être établi à partir des informations d'abattoir, de coproscopies ou de sérologies (individuelles ou de mélange) réalisées sur un échantillon d'animaux de l'élevage. Ces diverses méthodes présentent des intérêts et des inconvénients inhérents à la technique utilisée, à la biologie du parasite ou aux conditions de terrain (Chauvin et Boulard, 1992) ainsi qu'au mode d'interprétation propre à chaque technique. Dans ce contexte, les sérologies de mélange ont montré leur intérêt pour le dépistage des troupeaux infestés tant pour leur faible coût que pour leur sensibilité bien supérieure aux coproscopies (Boulard et al, 1985) ou aux remontées d'abattoir (Boulard

et Régnault, 1989). Toutefois, l'effet de dilution des sérums positifs diminue la sensibilité de la technique ; ainsi, en conditions de laboratoire, il est nécessaire d'avoir au moins 20 % de sérums positifs dans le mélange pour que celui-ci soit positif (Boulard et al, 1985).

L'objectif de cette étude est d'évaluer la sensibilité du diagnostic de troupeau par sérologies de mélange (technique Elisa avec des produits d'excrétion-sécrétion de *Fasciola hepatica* (PESFh) comme antigène) en conditions de terrain. Par ailleurs, nous définissons les clés d'interprétation de cette analyse en fonction des modalités de prélèvements et d'analyses.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les élevages et les prélèvements

Dans 170 élevages de bovins allaitants, des prélèvements de sang ont été réalisés sur six à dix jeunes de première ou deuxième saison de pâture et sur cinq à dix bovins adultes, les conditions d'infestation de ces deux catégories d'animaux étant souvent différentes (pâtures et/ou période

de pâturage des zones fasciologènes différentes). Après centrifugation et extraction, les sérums ont été conservés congelés à -20°C . Ces prélèvements ont été effectués entre novembre et février dans 69 troupeaux et en mars-avril dans 101 troupeaux. Les commémoratifs de traitement fasciolicide ont été recueillis ; dans les élevages prélevés entre novembre et février, aucun traitement fasciolicide n'était réalisé ; en revanche pour les autres troupeaux, prélevés en mars et avril, 78 éleveurs traitaient contre la douve et 23 ne traitaient pas. Au total, les élevages ont été répartis en deux groupes : les élevages ne traitant pas contre *F hepatica* (groupe 1, $n = 92$) et les élevages traitant contre *F hepatica* (groupe 2, $n = 78$).

Dans chaque troupeau, trois types de mélanges ont été réalisés à partir des 11 à 20 sérums prélevés. Pour respecter la structure de l'échantillonnage, deux petits mélanges (PM : cinq à dix sérums) ont été constitués à partir d'une quantité aliquote des sérums des jeunes, d'une part, et des adultes, d'autre part. Toutefois, l'objectif étant essentiellement d'évaluer la fiabilité de ces PM en fonction de la prévalence de séropositivité estimée du lot d'élevage, les données concernant les PM réalisées à partir des sérums des jeunes et des adultes n'ont pas été différenciées par la suite. Par ailleurs, un grand mélange (GM : 11 à 20 sérums) a été réalisé à partir d'une quantité aliquote des différents sérums prélevés dans l'exploitation.

Les sérologies

Les 11 à 20 sérums prélevés dans chaque troupeau ont été testés par sérologie individuelle pour estimer la prévalence de séropositivité de chaque troupeau et de chaque lot d'élevage (jeunes ou adultes).

Les mélanges et les sérums individuels ont été analysés par la technique Elisa décrite par Boulard et al (1985) utilisant comme antigène des PESFh. Les résultats sont exprimés en taux d'anticorps spécifiques (TAc) par rapport à des standards internes (positif et négatif) au labora-

toire ; le seuil de positivité de la technique a été préalablement défini à 30 % et le seuil de négativité à 20 %.

Analyse des résultats

Les TAc des mélanges ont été comparés à la prévalence de séropositivité du troupeau (GM) ou du lot d'élevage (PM). Par ailleurs, la réponse donnée à l'éleveur après analyse du grand mélange a été comparée à celle établie après analyse des deux PM (le troupeau étant considéré infesté dès qu'un mélange était positif) en fonction du niveau d'infestation estimé du troupeau. Les analyses statistiques ont été réalisées sur Statview II (Abacus Concept).

RÉSULTATS

La figure 1 présente les TAc des mélanges ([a] : GM ; [b] : PM) en fonction de la proportion de sérums positifs dans le mélange pour les élevages du groupe 1. La corrélation entre ces deux valeurs est hautement significative (GM : $r = 0,794$, $p < 0,0001$; PM : $r = 0,833$, $p < 0,0001$). Il en va de même pour les élevages du groupe 2 (données non illustrées ; GM : $r = 0,509$, $p < 0,0001$; PM : $r = 0,598$, $p < 0,0001$).

Le nombre d'élevages ou de lots détectés négatifs, douteux ou positifs par sérologies de mélange en fonction de la prévalence de séropositivité estimée du troupeau ou du lot d'élevage est représenté figure 2 pour les élevages des groupes 1 et 2. Dans tous les cas, la sensibilité des sérologies de mélange est faible pour les troupeaux ou les lots dont la prévalence de séropositivité est inférieure à 20 %. Dans les élevages du groupe 1, le diagnostic de troupeau réalisé par un GM permet de détecter comme étant infestés tous les troupeaux ayant plus de 60 % d'animaux sérologiquement positifs (fig 2a) alors que le diagnostic de troupeau réalisé par deux PM (le troupeau étant déclaré infesté dès qu'une des deux sérologies est positive) permet de détecter tous les troupeaux ayant

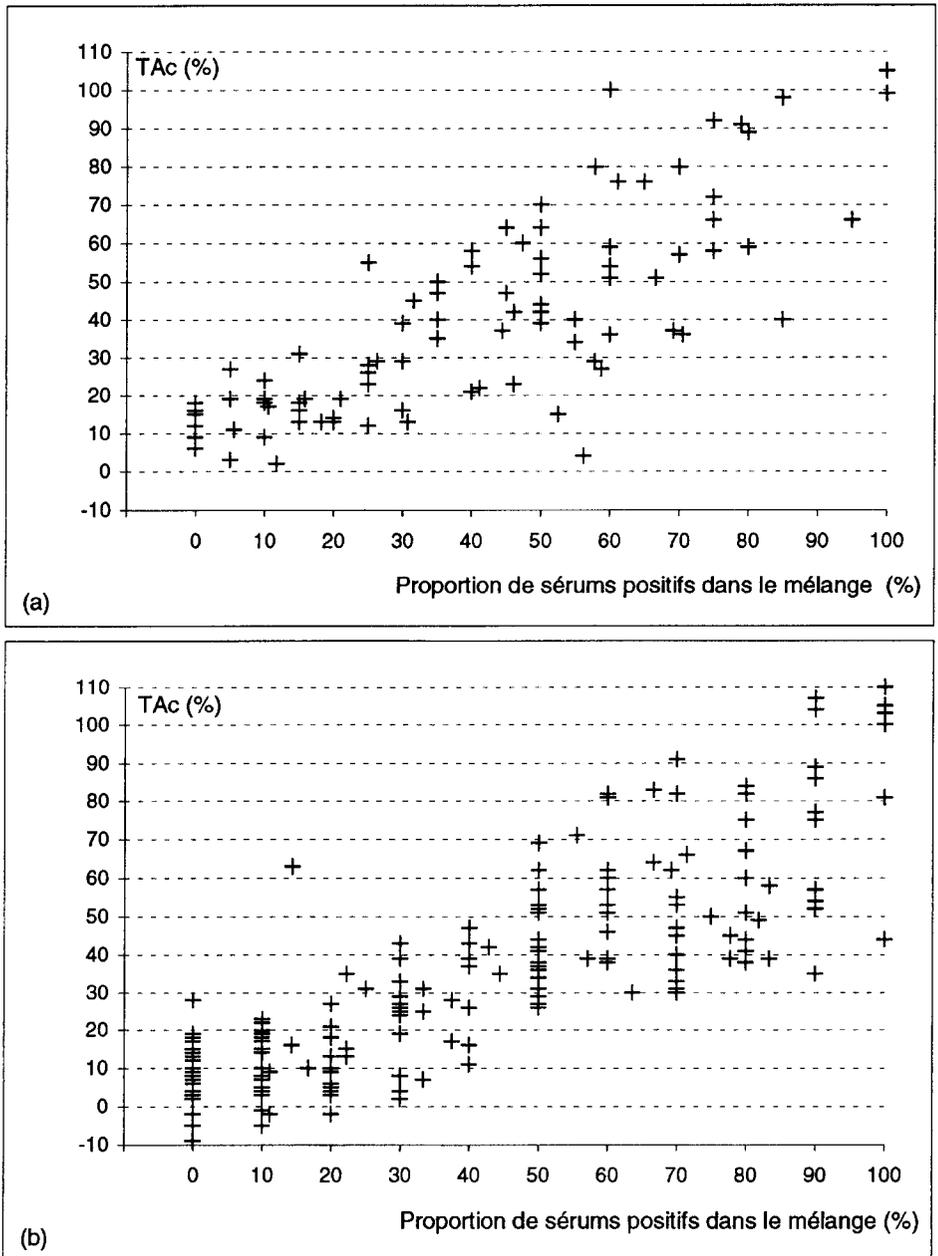


Fig 1. Corrélation entre le taux d'anticorps spécifiques (TAc) du mélange ([a] : grands mélanges, $n = 92$; [b] : petits mélanges (de sérums des jeunes et des adultes), $n = 184$) et la proportion de sérums sérologiquement positifs dans le mélange pour les élevages du groupe 1.

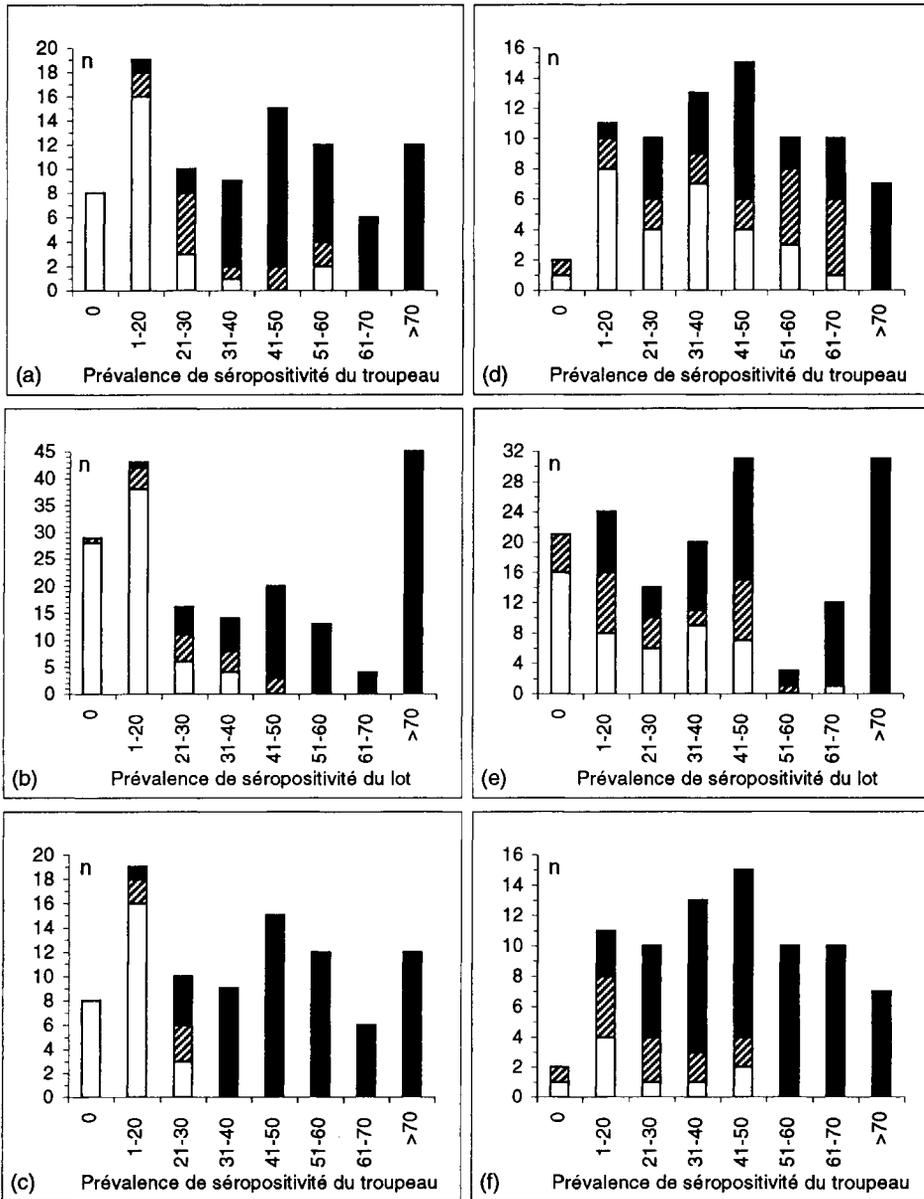


Fig 2. Nombre d'élevages ou de lots d'élevage (jeunes et adultes) détectés positifs (■), douteux (▨) ou négatifs (□) en fonction de la prévalence de séropositivité estimée du troupeau ou du lot d'élevage pour les élevages du groupe 1 (a, b, c) et du groupe 2 (d, e, f) avec les stratégies d'interprétation suivantes : (a, d) : diagnostic de l'infestation du troupeau par une sérologie de mélange (GM) ; (b, e) : diagnostic de l'infestation du lot d'élevage par une sérologie de mélange (PM) ; (c, f) : diagnostic de l'infestation du troupeau par 2 sérologies de mélanges (PM).

plus de 30 % d'animaux sérologiquement positifs (fig 2c). En revanche, dans les élevages du groupe 2, seuls les élevages ayant plus de 70 ou 50 % d'animaux positifs sont systématiquement détectés par, respectivement, un GM (fig 2d) ou deux PM (fig 2f). La même différence entre les groupes 1 et 2 est observée si l'on considère la capacité des petits mélanges à détecter l'infestation des lots d'élevage (fig 2b, e).

DISCUSSION

À partir de cette étude menée sur 170 troupeaux, il apparaît que la sensibilité de la sérologie de mélange pour le dépistage de la fasciolose bovine dépend de multiples facteurs, notamment le niveau d'infestation du troupeau, la taille du mélange, les traitements fasciolicides antérieurs et la stratégie d'interprétation. Comme il était prévisible à partir des données de laboratoire existantes (Boulard et al, 1985), seule une très faible part des troupeaux infestés ayant moins de 20 % d'animaux sérologiquement positifs est dépistée par sérologie de mélange (5 à 7 sur 30 selon la technique d'interprétation). La sensibilité du diagnostic augmente nettement avec le niveau d'infestation du cheptel. Ceci est en concordance avec la nette corrélation observée entre le TAc de mélange et la proportion de sérums positifs dans celui-ci, comme cela a été décrit pour les mélanges de sérums et de laits par Pourquier et al (1995). Toutefois, étant donné la dispersion des valeurs, il apparaît hasardeux d'estimer la prévalence de séropositivité du cheptel à partir du TAc du mélange ; ainsi des cheptels ayant un même TAc de 40 % peuvent avoir une prévalence de séropositivité de 30 à 80 %.

Par ailleurs, la taille du mélange influe sur la fiabilité de l'analyse. Ainsi, pour les élevages du groupe 1, la sérologie de GM détecte tous les troupeaux dont la prévalence de séropositivité estimée est supérieure à 60 % et deux résultats faussement négatifs sont obtenus pour des troupeaux ayant entre 40 et 60 % d'animaux sérologiquement positifs ($n = 27$ troupeaux) ; en revanche, aucun PM faussement négatif n'est

observé pour des proportions de sérums positifs supérieures à 40 % dans le PM. De plus, la réalisation de PM double le nombre d'analyses dans l'élevage ; lorsque l'on interprète globalement ces deux analyses en déclarant infesté un élevage dès qu'une sérologie de PM est positive, il apparaît possible de détecter tous les troupeaux du groupe 1 ayant une prévalence de séropositivité estimée supérieure à 30 %. Or, nous avons observé, au cours de cette étude, que certains sérums négatifs ont une forte capacité à diminuer le TAc d'un pool (GM ou PM) contenant des sérums positifs ; effectuer deux analyses limite le risque d'avoir de tels sérums dans les deux mélanges.

La même sensibilité croissante – sérologie de GM, sérologie de PM, diagnostic de troupeau par deux PM – apparaît pour les élevages du groupe 2. Toutefois, le niveau global de performances est nettement plus bas : à peine la moitié des élevages ayant une prévalence de séropositivité estimée de 60 à 70 % ($n = 10$ troupeaux) sont détectés infestés, l'un étant même déclaré faussement négatif ; en revanche, le diagnostic de troupeau par deux PM autorise le dépistage des troupeaux ayant plus de 50 % de séropositifs, seuls quatre troupeaux ayant de 30 à 50 % de séropositifs ($n = 38$ troupeaux) étant déclarés faussement négatifs. Ce phénomène est explicable par la baisse des TAc après traitement fasciolicide, la rémanence des anticorps anti-*Fasciola* chez un animal infesté étant de l'ordre de 2 à 8 mois selon les antigènes et les techniques sérologiques utilisées (Chauvin et Boulard, 1992 ; Levieux et al, 1992 ; Boulard et al, 1995). Cette baisse globale des TAc des animaux induit un passage sous le seuil de positivité de la technique des TAc des mélanges alors qu'un certain nombre d'animaux restent individuellement séropositifs. Le recueil des commémoratifs de traitement fasciolicide éventuel apparaît donc essentiel pour apprécier la fiabilité du diagnostic de troupeau envisagé. Il faut remarquer que, au cours de cette étude, les prélèvements sur les animaux traités ont été réalisés 3 à 6 mois après le traitement fasciolicide ; un prélèvement plus précoce, dans les 2 mois

suivant le traitement fasciolicide, aurait limité cette baisse de sensibilité du diagnostic de troupeau. Par ailleurs, lors de l'interprétation de ce diagnostic dans un troupeau traité, il ne faut pas perdre de vue qu'un résultat positif indique la présence de zones pâturées fasciologènes dans l'exploitation sans préjuger de l'infestation des animaux au moment de l'analyse, la vérification de l'efficacité d'un traitement fasciolicide par sérologie nécessitant la réalisation de cinétiques d'anticorps individuelles.

Étant donné son faible coût, le diagnostic de troupeau par sérologie(s) de mélange (Elisa PESFh) reste très intéressant pour le dépistage de masse des exploitations douées, d'autant plus qu'il apparaît possible de l'optimiser, simplement en affinant les clefs d'interprétation. Toutefois, il ne doit pas être «surinterprété» ; ainsi, l'évaluation de la prévalence de séropositivité d'un troupeau ou le dépistage de troupeaux faiblement infestés (moins de 30 % de séropositifs) nécessitent l'emploi de sérologies individuelles. De plus, étant donné qu'il existe une certaine discordance entre les données de laboratoire et les données de terrain sur la capacité de la sérologie de grand mélange à détecter des troupeaux moyennement infestés (20 à 50 %), il serait souhaitable de réaliser une étude similaire sur la sensibilité du diagnostic de troupeau de la fasciolose par analyse sur lait de mélange, cette technique semblant plus fréquemment utilisée que la sérologie en élevage laitier. Par ailleurs, dans cette étude, l'antigène était constitué d'une douzaine de protéines antigéniques reconnues séquentiellement et avec une intensité différente au cours des diverses phases évolutives du parasite (Chauvin et al, 1995) ; l'utilisation d'une protéine antigénique unique reconnue à un moment particulier de l'infestation pourrait modifier ces résultats.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mmes Marchand et Roux pour leur excellente assistance technique. Cette étude a été financée pour partie par Boviloire et l'union régionale Centre-Atlantique (Angers, France), et pour partie par un contrat européen (ERBTS3*CT920106).

RÉFÉRENCES

- Boulard C, Bouvry M, Argenté G (1985) Comparaison de la détection des foyers de fasciolose par test Elisa sur lactosérum et sérum et par coproscopie. *Ann Rech Vét* 16, 363-368
- Boulard C, Régnauld A (1989) L'immunodiagnostic de la fasciolose bovine par méthode Elisa. *Bull Group Tech Vét* 1B, 59-68
- Boulard C, Carreras F, Van Gool F (1995) Evaluation of nitroxylin and closantel activity using ELISA and egg counts against *Fasciola hepatica* in experimentally and naturally infected cattle. *Vet Res* 26, 249-255
- Chauvin A, Boulard C (1992) Le diagnostic de la fasciolose des ruminants : interprétation et utilisation pratique. *Bull Group Tech Vét* 1B, 69-73
- Chauvin A, Bouvet G, Boulard C (1995) Humoral and cellular immune responses to *Fasciola hepatica* experimental primary and secondary infection in sheep. *Int J Parasitol* 25, 1227-1241
- Levieux D, Levieux A, Mage C, Garel JP (1992) Immunological detection of chemotherapeutic success in bovine fasciolosis using the specific antigen f2. *Vet Parasitol* 45, 81-88
- Pourquier P, Caquineau L, Galaup M, Le Moal Y, Martain L, Salingardes F, Turmel R (1995) Évaluation de l'infestation naturelle de cheptels bovins par *Fasciola hepatica* d'après le titrage d'anticorps du sang ou du lait avec un réactif Elisa utilisant l'antigène spécifique f2. *Bull Soc Vét Prat Fr* 79, 285