TITRE DE LA PRÉSENTATION :

Dépistage de l'arthrite encéphalite caprine : comparaison de la méthode ELISA dans le lait de chèvre par rapport au sérum

AUTEUR : **Dre Carole Simard**, D.M.V., M.Sc., Ph.D.
Gestionnaire en recherche du Réseau des laboratoires du Québec, secteur virologie et biotechnologie
Agence canadienne d'inspection des aliments

FAITS SAILLANTS

- L'arthrite encéphalite caprine (AEC) se contrôle via des programmes d'assainissement des troupeaux caprins.
- Le contrôle de l'AEC nécessite, entre autres, un test de dépistage performant.
- Le test ELISA à protéines recombinantes du maedi visna, un virus étroitement apparenté à celui de l'AEC, détecte efficacement l'AEC dans les sérums caprins.
- Cette étude vise à démontrer que ce test est également efficace dans le lait de chèvre et ceci, à tout moment de la lactation.

INTRODUCTION

L'arthrite encéphalite caprine (AEC) est une maladie à évolution lente causée par un rétrovirus de la sous-famille des *lentivirinae*. Chez l'adulte, elle se caractérise par de l'arthrite chronique, de la mammite et une pneumonie interstitielle chronique. Chez les chevreaux, une forme neurologique est parfois rencontrée. Les infections subcliniques sont fréquentes. Peu importe le degré d'infection, un animal atteint de la maladie demeure alerte et ne fait pas de fièvre. Il dépérit cependant progressivement et devient cachectique en dépit d'un bon appétit, lorsque apparaissent les symptômes de la maladie.

La transmission du virus de l'AEC se fait principalement par le colostrum, le lait et les échanges sanguins (ex. : réutilisation de seringues). La transmission par la voie respiratoire d'aérosols infectieux est également importante. Le virus est associé à des cellules infectées et ne se retrouve pas abondamment en tant que particules virales libres dans l'environnement. De plus, le virus de l'AEC étant fragile, il est rapidement inactivé à l'extérieur de son hôte. Pour qu'elle soit efficace, la voie aérienne nécessite donc un contact étroit entre les animaux. La transmission *in utero* est également possible, mais n'est pas une voie importante de contamination, tout comme le transfert du virus par le sperme et les embryons.

L'AEC est une maladie omniprésente dans de nombreux pays, notamment au Canada où la prévalence de cette maladie est très élevée. Sous sa forme clinique, l'AEC entraîne des pertes économiques pour l'industrie caprine dû à la réforme précoce des animaux, notamment à cause

d'une diminution de la production lactée (mammites), du dépérissement progressif des animaux et des boiteries (arthrites chroniques), des traitements palliatifs et des coûts de remplacement des animaux malades au sein des troupeaux. Puisque aucun vaccin ni traitement contre le virus de l'AEC ne sont disponibles et que le virus persiste durant toute la vie d'un animal infecté, le contrôle de cette maladie se fait par des programmes d'assainissement visant à ségréguer et/ou éliminer les animaux porteurs du virus de l'AEC et leurs descendants au sein des troupeaux. Les dépistages se font à intervalles réguliers, pendant plusieurs années. L'efficacité de ces programmes dépend essentiellement de la qualité des tests de dépistage des animaux porteurs du virus et de la mise en place de mesures de biosécurité, non seulement pour contrer la transmission du virus entre les animaux infectés et les animaux sains, mais également pour prévenir la réintroduction du virus au sein des troupeaux assainis.

Le test ELISA appliqué sur le sérum des animaux est actuellement le test sérologique de choix pour le dépistage de l'AEC. En plus de sa rapidité et de sa facilité d'exécution, ce test s'avère très performant. Cependant, les coûts opérationnels relatifs à cette épreuve sont relativement élevés, vu la nécessité de prélever régulièrement des échantillons sanguins par un vétérinaire à la ferme, de l'envoi immédiat des échantillons de sang au laboratoire (idéalement en deçà de 24 heures), et de la manipulation des échantillons de sang au laboratoire pour en extraire le sérum. Ceci est un facteur limitant le contrôle de la maladie au sein des troupeaux.

Celer *et al.*[1] ont démontré la performance du test ELISA à virus entier de l'AEC dans le lait par rapport au sérum d'animaux infectés. Motha et Ralston[2] suggéraient le lait de chèvre comme un véhicule alternatif pour le diagnostic sérologique de l'AEC par la méthode ELISA. Dans leur étude, la sensibilité et la spécificité relatives des tests ELISA dans le lait en comparaison avec le sérum des animaux étaient respectivement de 96,4 % et 97,3 %. Selon Rimstad *et al.*[3] cependant, un test ELISA à protéines recombinantes décelait significativement plus d'animaux positifs à partir du sérum qu'à partir du lait de chèvre.

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Notre laboratoire a développé un test ELISA à protéines recombinantes du Maedi-Visna (MV)[4], un rétrovirus de moutons apparenté étroitement à celui de l'AEC de la chèvre. Ce test a été comparé à celui de l'AEC[5]. Récemment, ce test a été optimisé[6] et utilisé afin de comparer sa performance sur du sérum de chèvres comparativement à d'autres épreuves ELISA spécifiques à l'AEC. Cette étude a démontré que le test ELISA à protéines recombinantes du MV est applicable au diagnostic sérologique de l'AEC, avec un Kappa supérieur à 0,9 comparativement à l'épreuve ELISA utilisant le virus entier de l'AEC[6]. Afin de réduire les coût inhérents à la collecte de sang et le stress qui lui est associé chez les animaux, et faciliter l'enrôlement des producteurs dans notre programme pilote d'assainissement des troupeaux caprins pour l'AEC[7], notre étude vise essentiellement à démontrer l'efficacité de ce test ELISA sur le lait de chèvre, et ce, à tout moment de la lactation.

PLAN EXPÉRIMENTAL

Trois troupeaux caprins de chèvres laitières ont participé à cette étude. Le tableau 1 indique les taux de prévalence sérologique de l'AEC au sein des troupeaux au début de notre étude. La prévalence élevée de l'AEC au sein des troupeaux participant à l'étude ne nous a pas étonné, considérant la forte prévalence de l'AEC dans les troupeaux de chèvres laitières au Québec

(Bélanger *et al.*[8]). De ces animaux, une cohorte a été sélectionnée dans chacune des fermes, représentant 57, 36 et 46 chèvres allaitantes pour les troupeaux FC1, FC2 et FC4 respectivement. Du sang a d'abord été prélevé deux à quatre semaines avant la mise bas chez tous les animaux. Les prélèvements sanguins se sont poursuivis à intervalles réguliers de deux mois environ durant l'étude, soit au début, au milieu et en fin de lactation. Le tableau 2 montre la séroprévalence des animaux participants à l'étude dans le temps. Des échantillons de lait ont également été prélevés directement de la glande mammaire à intervalles d'un mois, dans des cupules contenant un préservatif. Les sangs et les laits pairés ont été prélevés en même temps.

Tableau 1 Séroprévalence de l'AEC dans les troupeaux au début de l'étude, avant la mise bas

Identification de la ferme	Taux d'infection
FC1	76,4 %
FC2	94,0 %
FC4	75,0 %

Tableau 2 Séroprévalence de l'AEC chez les animaux allaitants de l'étude, au début, au milieu et en fin de lactation

Identification de la ferme	Taux d'infection Début de la lactation	Taux d'infection Milieu de lactation	Taux d'infection Fin de lactation
FC1	73,7 %	94,1 %	93,5 %
FC2	94,4 %	95,0 %	100 %
FC4	80,4 %	85,2 %	90,9 %

RÉSULTATS

Nonobstant la période de lactation, au total, 343 paires sérum-lait ont été testées par la méthode ELISA à protéines recombinantes du MV. Le tableau 3 montre une grande concordance entre les deux tests (99,4 %), avec une sensibilité et une spécificité relatives du test ELISA sur le lait de 99,7 et 97,5 % respectivement, comparativement à celui appliqué au sérum. Selon la période de lactation, ces taux n'ont pas varié significativement, quoique les concordances sérum-lait augmentaient dans le temps (tableau 4). Au total, 82 sur les 139 animaux sélectionnés en début d'étude ont été prélevés à tous les points de prélèvements sanguins. De ce nombre, 61 (74,4 %) sont demeurés séropositifs tout au long de l'étude, alors que 16 animaux (19,5 %) ont séroconverti, majoritairement durant la première demie de la

période de lactation (14 sur les 16 animaux). Seulement 4 des 21 chèvres séronégatives en début d'étude sont restées séronégatives tout au long de l'étude. Un seul animal a séroréversé (48M) chez ces 82 animaux. Dans le lait, une tendance similaire a été notée. Au total, 62 animaux (75,6 %) sont demeurés lacto-positifs tout au long de l'étude, alors que 15 d'entres eux (18,3 %) ont lacto-converti, surtout durant la première demie de la période de lactation. Seulement 4 des 19 chèvres lacto-négatives en début d'étude sont demeurées lacto-négatives tout au long de l'étude. Deux animaux (48 M et 80 M) ont lacto-réversé durant l'étude. Le tableau 5 montre la cinétique de détection des anticorps dans le sang et le lait par ELISA chez les animaux qui ont changé de statut au cours de l'étude (n = 17/82), et la grande concordance de ces résultats.

Tableau 3 Comparaison entre la méthode ELISA sur les sérums par rapport aux laits pairés de chèvres (n = 343 paires)

	LAITS	
SÉRUMS	**NÉGATIFS**	**POSITIFS**
NÉGATIFS	39	1
POSITIFS	1	302

Sensibilité relative (Se = 99,7 %)
Spécificité relative (Sp = 97,5 %)
Concordance (99,4 %)

Tableau 4 Comparaison entre la méthode ELISA sur les sérums par rapport aux laits pairés de chèvres, selon la période de la lactation

Début de la lactation (n = 140 paires)	**Milieu de lactation (n = 116 paires)**	**Fin de lactation (n = 87 paires)**
Se = 99,1 %	Se = 100 %	Se = 100 %
Sp = 96,1 %	Sp = 100 %	Sp = 100 %

Se = sensibilité relative
Sp = spécificité relative

Tableau 5 Cinétique de détection des anticorps anti-AEC dans le sérum et le lait au cours de l'étude longitudinale, pour les animaux ayant changé de statut

	G	PÉRIODE DE LACTATION											
	SÉRUM ELISA					LAIT ELISA							
	F	D	M	F		D		M		F			
89L	-	-	+	+	C	-	-	+	+	+	+		C
48M	-	-	+	-	R	-	-	+	+	+	-		R
49M	-	-	-	+	C	-	-	-	-	-	+		C
43M	-	-	+	+	C	-	-	+	+	+	+		C
143M	-	-	+	+	C	-	-	-	+	+	+		C
107M	-	-	+	+	C	-	+		+		+		C
108M	-	-	+	+	C	-	+	+	+	+	+		C
80M	-	-	+	+	C	+	-	+	+	+	+		R
64M	-	-	+	+	C	-	-	+	+	+	+		C
104M	-	-	+	+	C	-	-	+	+	+	+		C
149M	-	-	+	+	C	-	-	+	+	+	+		C
7M	-	-	+	+	C	-	+	+	+	+	+		C
144	-	-	+	+	C	-	+	+	+	+	+		C
VB15M	-	+	+	+	C	-	-	+	+	+	+	+	C
VB24M	-	+	+	+	C	+	+	+	+	+	+	+	C
2NOIRE	-	-	-	+	C	-	-	-	-	-	-	+	C
VB4M	-	-	+	+	C	-	-	-	-	+	+	+	C

G = gestation **C = conversion**
D = début **R = réversion**
M = milieu **+ = positif**
F = fin **- = négatif**

CONCLUSION

Les résultats de notre étude démontrent que le test ELISA à protéines recombinantes du MV est aussi performant dans le lait comparativement au sérum, et ce, durant tout le processus de lactation chez la chèvre laitière. Nos études nous portent également à croire que la seconde moitié de la période de lactation décèlerait plus d'animaux porteurs d'AEC, compte tenu de l'observation d'un taux plus élevé de séroconversion durant la première moitié de la période de lactation. Ces données peuvent probablement être extrapolées aux autres types de production caprine. Nous avons de ce fait testé avec succès quelques échantillons de lait provenant de fermes de caprins Boers. Une telle approche pourrait s'avérer bénéfique aux producteurs désireux de participer à notre programme d'assainissement des troupeaux caprins pour l'AEC. Contrairement au sang, la collecte du lait est rapide et ne requiert pas de personnel qualifié. De plus, un préservatif utilisé lors de la collecte du lait permet d'acheminer les échantillons au laboratoire en deçà de quelques jours, sans en influencer significativement les résultats obtenus par le test ELISA. Finalement, les échantillons de lait n'ont pas à être manipulés extensivement au laboratoire, facilitant ainsi les épreuves ELISA. Il est à noter que les échantillons de lait peuvent également être congelés à la ferme, advenant l'impossibilité de les acheminer à l'intérieur de quelques jours au laboratoire. Cette approche ne doit pas limiter, cependant, le lien étroit devant s'établir entre le producteur et son vétérinaire, particulièrement pour les troupeaux infectés par l'AEC.

RÉFÉRENCES

1. Celer, V. Jr., Zanoni, RG., Peterhans, E. 1993. Comparison of various antigens in the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis virus using the ELISA test. Vet Med (Praha) 38(4) : 237-244.

2. Motha, MX., Ralston, JC. 1994. Evaluation of ELISA for detection of antibodies to CAEV in milk. Vet Microbiol 38(4) : 359-367.

3. Rimstad, E., East N., DeRock E., Higgins, J., Pedersen, NC. 1994. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus using recombinant gag proteins. Arch Virol 134(3-4) : 345-356.

4. Power, C., Richardson, S., Briscoe, M., Pasick, J. 1995. Evaluation of two recombinant maedi-visna virus proteins for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to ovine lentiviruses. Clin and Diagnostic Lab Immunol 2(5) : 631-633.

5. Pasick, J. 1998. Use of a recombinant maedi-visna virus protein ELISA for the serologic diagnosis of lentivirus infections in small ruminants. Can J Vet Res 62(4) : 307-310.

6. Simard, C., *et al*. Comparison between different ELISAs for the sero-diagnosis of caprine arthritis-encephalitis and maedi-visna, two related small ruminant retroviruses. *In progress*.

7. Simard, C., Ouellet, C, Méthot H. Programme d'assainissement des troupeaux caprins pour l'AEC. Agence canadienne d'inspection des aliments, Laboratoire de Saint-Hyacinthe.

8. Bélanger, D. 1993. Bulletin Le Chèvrefeuille 13-15.