

Validation d'un nouveau test ELISA sur les échantillons de contrôle laitier pour le diagnostic de la leucose bovine.

Karol Gilberto Solano-Suarez¹, Jean-Philippe Roy¹, Juan Carlos Arango-Sabogal¹, Elouise Molgat², Christian Bédard¹, Carl A. Gagnon¹, Sébastien Buczinski¹ et Simon Dufour¹

¹ Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. Saint-Hyacinthe QC, Canada

² Lactanet, Sainte-Anne-de-Bellevue QC, Canada

La leucose bovine est une maladie incurable qui menace la santé et la production des vaches au Canada, entraînant des pertes économiques importantes pour les producteurs. Aucun test ELISA pour les échantillons de lait individuels n'est disponible au Canada, car seuls des tests pour le lait de réservoir sont commercialisés. Nous avons donc adapté un test ELISA de réservoir pour les échantillons individuels et évalué le risque de contamination par la vache précédente lors du contrôle laitier.

Cette adaptation a nécessité des dilutions pour éviter la saturation, avec une densité optique corrigée par un facteur de dilution final de 1/100. Nous avons collecté des échantillons de lait de 638 vaches de 8 fermes au Québec, en enregistrant l'ordre de traite, ainsi que des échantillons de sang pour qPCR et comptage de lymphocytes afin de valider le test ELISA adapté. L'analyse des données a montré que le meilleur seuil de densité optique pour l'ELISA est de 0,5, offrant une sensibilité de 91 % et une spécificité de 98 %. Cependant, la spécificité chute à 80 % si l'échantillon testé est prélevé après une vache avec un résultat positif, ce qui peut entraîner un faux positif.

À court terme, Lactanet intégreront ce test dans leurs contrôles laitiers dès 2025, facilitant ainsi le suivi de la leucose bovine. À moyen terme, les résultats encourageront les producteurs à vérifier leur statut et à agir pour contrôler la leucose bovine. À long terme, cela pourrait réduire les pertes économiques liées à la maladie, renforçant ainsi la santé animale et la rentabilité du secteur laitier au Québec et au Canada.

Partenaires financiers :

- Association des médecins vétérinaires praticiens du Québec
- Les producteurs laitiers du Canada
- DSAR (Développement stratégique des affaires rurales)
- Lactanet
- Novalait
- CRSNG (Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada)
- Partenariat canadien pour l'agriculture
- OP+Lait (Regroupement pour un lait de qualité optimale)
- Chaire de recherche en biosécurité en production laitière



Validation d'un nouveau test ELISA sur les échantillons de contrôle laitier pour le diagnostic de la leucose bovine

Karol Gilberto Solano-Suarez¹, Jean-Philippe Roy¹, Juan Carlos Arango-Sabogal¹, Elouise Molgat², Christian Bédard¹, Carl A. Gagnon¹, Sébastien Buczinski¹ et Simon Dufour¹

¹ Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. Saint-Hyacinthe QC, Canada

² Lactanet, Sainte-Anne-de-Bellevue QC, Canada



INTRODUCTION ET PROBLÉMATIQUE

La leucose bovine est une maladie incurable affectant l'immunité, la santé et la production des vaches au Canada, entraînant des pertes économiques considérables et très préjudiciables, mais souvent non perçues par les producteurs laitiers. Au Canada, les tests ELISA pour les échantillons de lait individuels sont difficilement accessibles, seuls ceux pour le lait de réservoir étant disponibles. Nous adapterons donc un test ELISA destiné au lait de réservoir pour l'utiliser sur des échantillons individuels, nous allons le valider, et évaluerons le risque de contamination entre les vaches sur des échantillons prélevés lors du contrôle laitier.

MÉTHODOLOGIE



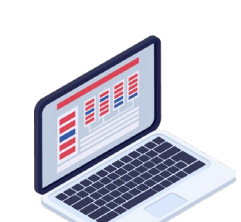
Adaptation du test ELISA :

- ❖ Échantillons de lait dilués pour éviter la saturation, densité optique ajustée et corrigée selon la dilution finale.



Collecte d'échantillons (638 vaches, 8 fermes; QC) :

- ❖ Contrôle laitier : Échantillons de lait de chaque vache en lactation, ordre de traite enregistré.
- ❖ Dans la même semaine : Échantillons de sang des mêmes vaches pour qPCR et comptage de lymphocytes.



Analyse des données :

- ❖ Évaluation du meilleur seuil pour l'ELISA en estimant les coûts de mauvaise classification
- ❖ Évaluation de l'exactitude de l'ELISA en comparant aux tests qPCR et comptage de lymphocytes :
 - ✓ L'exactitude (sensibilité et spécificité).
 - ✓ Les valeurs prédictives positives et négatives.
 - ✓ La probabilité d'un résultat faux-positif en raison d'une contamination de l'échantillon de lait de contrôle par la vache traite précédemment.

RÉSULTATS

- ❖ Le seuil de densité optique (DO) ajusté à 0,5 minimisait les coûts des erreurs de diagnostic du test ELISA adapté. La sensibilité et la spécificité obtenues à ce seuil sont de 91 % et 98 %, respectivement. La Figure 1 présente les valeurs prédictives du test, illustrant l'application pratique de cette nouvelle adaptation du test ELISA dans des conditions de terrain.
- ❖ Lorsqu'une vache était traite immédiatement après une vache négative, la spécificité du test était de 91 %, contre 80 % après une vache positive. Cela suggère une possible contamination de l'échantillon de lait par la vache précédente, entraînant des résultats faux-positifs lors du contrôle laitier.

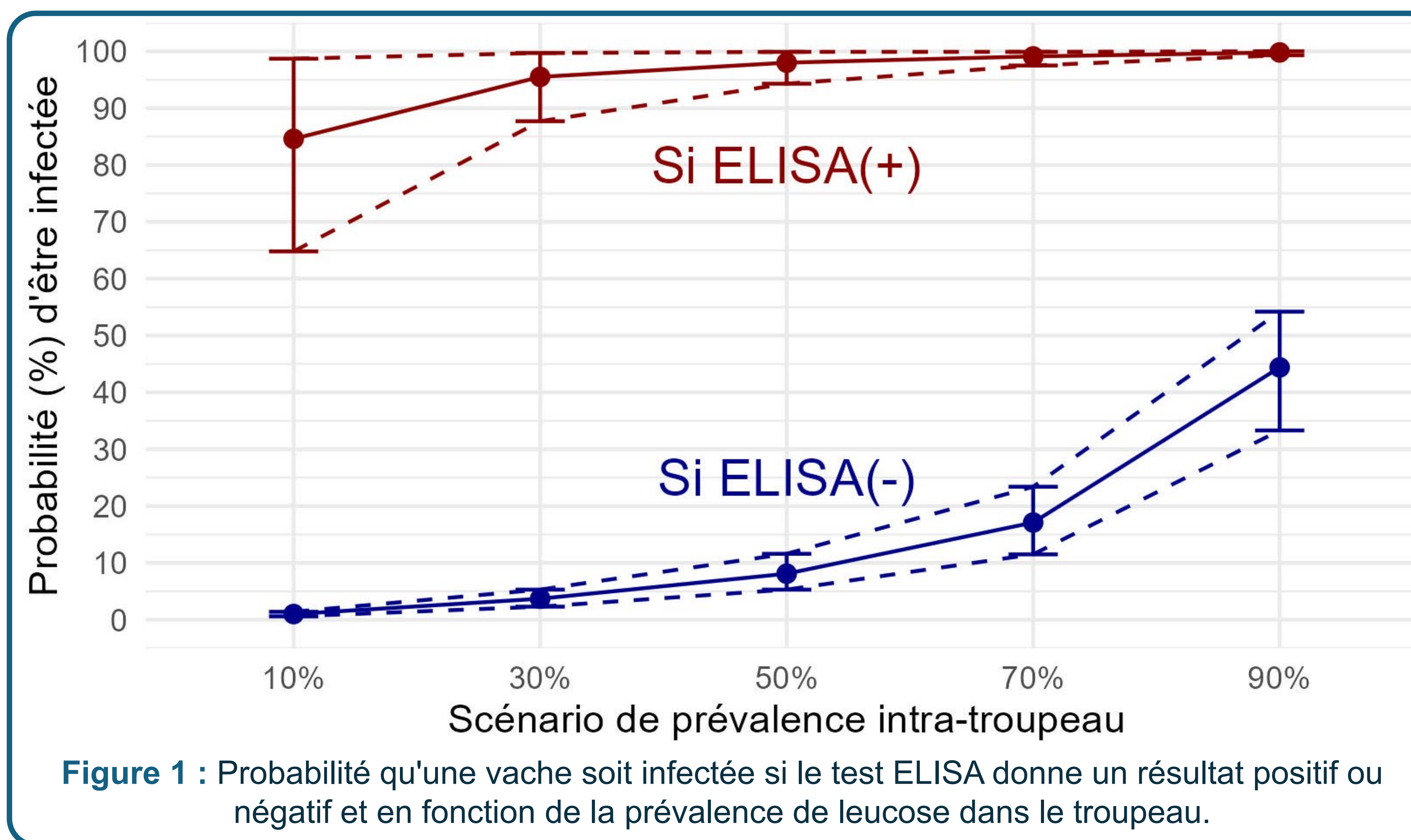


Figure 1 : Probabilité qu'une vache soit infectée si le test ELISA donne un résultat positif ou négatif et en fonction de la prévalence de leucose dans le troupeau.

Quel est votre scénario ci-dessus?

CONCLUSIONS

- ❖ Le seuil de densité optique ajustée que nous recommandons selon nos analyses est de 0.5:
 - NEGATIVE : DO ajustée < 0,5**
 - POSITIVE : DO ajustée ≥ 0,5**
- ❖ Une diminution de ~ 11 % de la spécificité est notée lorsque la vache traite précédemment était positive. Dépendamment des objectifs poursuivis, dans certains cas, il pourrait donc être préférable de confirmer l'état d'infection d'une vache avec un échantillon prélevé manuellement.