



**MALADIE DES MUQUEUSES**

**=**

**B. V. D.**

***REFERENTIEL TECHNIQUE DE  
GARANTIE D'UN ANIMAL NON-IPI***

## PREAMBULE

Ce document décrit les différentes méthodes validées par les Groupements de Défense Sanitaire français et leur Fédération Nationale, permettant de présumer qu'un bovin n'est pas Infecté Permanent Immunotolérant (IPI) à l'égard du virus de la BVD.

Il constitue la référence à utiliser lors de toute demande de garantie concernant la BVD à l'occasion de mouvement(s) impliquant un ou plusieurs bovins : transactions (achat, prêt, pension, ...) ou participation à des rassemblements de courte durée (concours, comices, expositions, ...).

En effet, les Groupements de Défense Sanitaire et leur Fédération Nationale ont convenu que de telles demandes ne peuvent concerner que les bovins faisant eux-mêmes l'objet de mouvements, et ne peuvent porter que sur le fait que ces animaux ne soient pas IPI.

Dans tous les cas, le choix de faire cette demande reste à l'entière décision du responsable du site accueillant le(s) bovin(s), la prise de garanties à l'égard de la BVD ne constituant en rien une obligation.

En outre, il convient de rappeler ici les limites générales de la garantie susceptible d'être ainsi apportée, qui ressortent de deux domaines principaux :

- la technique, à savoir qu'aucune méthode d'analyse n'est fiable à 100%. Sur le nombre de tests réalisés, quelques résultats faussement positifs et/ou faussement négatifs sont inévitables ;
- l'épidémiologie, dans la mesure où il existe d'autres sources de virus que les IPI, et d'autres circonstances de contamination que les mouvements d'animaux (même s'il s'agit là d'un risque majeur). Le fait de s'assurer que les bovins introduits ne sont pas IPI ne constitue donc pas une protection infaillible à l'égard de la BVD, mais simplement une précaution possible parmi d'autres. Cela ne dispense notamment nullement de la mise en quarantaine à l'introduction, mesure fondamentale vis à vis tant de la BVD que de nombreuses autres maladies.

Toutefois, la mise en œuvre du présent référentiel permet d'apporter quant au statut de non-IPI d'un bovin une garantie estimée au moins égale à 99,9 %. Elle est essentiellement destinée aux animaux de reproduction et aux bovins en contact direct avec ces derniers, la démarche ne présentant que très peu d'intérêt pour les animaux d'engraissement sans contact avec des reproducteurs.

Dans un premier temps, les différents critères permettant de présumer qu'un animal est non-IPI seront décrits. Ils peuvent être regroupés en deux catégories :

- des méthodes pouvant être qualifiées de « directes », c'est-à-dire fondées sur les résultats d'analyses de l'animal faisant lui-même l'objet de la garantie. Ce chapitre sera l'occasion de passer en revue les différentes techniques de laboratoire actuellement utilisables pour le dépistage des bovins IPI, et de faire un point rapide sur leurs principes, caractéristiques et limites respectifs ;
- des méthodes pouvant être qualifiées d'« indirectes », c'est-à-dire nécessitant la prise en compte d'analyses réalisées sur d'autres animaux du troupeau.

Une synthèse des différents critères sera ensuite réalisée, pour aboutir à la définition d'un référentiel du statut de « bovin non-IPI ».

## **I. Analyses portant sur l'animal lui-même**

### **1. Techniques virologiques**

- **Principe ; outils disponibles**

Ces techniques ont en commun le fait qu'elles reposent sur la mise en évidence « directe » de tout ou partie du virus. Sur animal vivant, les prélèvements classiquement utilisés sont le lait et le sang.

Dans ce contexte, trois grandes familles de tests sont utilisables :

- ELISA, basée sur la mise en évidence de sites antigéniques particuliers de différentes parties du virus. Plusieurs antigènes servent ainsi de support à différents kits de dépistage : gp25 (= E1), gp44 (= E0 = Eq/Ens), gp48 (= Erns), gp53 (= E2), P80 (= NS2/3).  
L'antigénémie P80 est actuellement, de très loin, la plus utilisée sur le terrain, notamment en raison du caractère commun de la protéine P80 à toutes les souches connues de BVDV.
- PCR (Polymerase Chain Reaction), basée sur la mise en évidence, après amplification, du matériel génétique du virus. Plusieurs laboratoires développent actuellement des kits de diagnostic reposant sur ce principe.
- Culture cellulaire : après mise en culture de l'échantillon, destinée à multiplier le virus éventuellement présent, ce dernier est visualisé en immunofluorescence.

- **Principales caractéristiques des différents outils**

Les tests ELISA sont disponibles sur prélèvements sanguins et, depuis peu, cutanés, alors que la recherche du virus par PCR est réalisable sur échantillons de sang et de lait. La culture cellulaire peut être effectuée à partir de tout substrat biologique, notamment le sang et le sperme.

Les sangs ou laits de mélange doivent être traités par PCR, les deux autres techniques restant limitées, dans la pratique courante, aux analyses individuelles.

Cas particulier du lait de tank : du fait de l'absence de liste formalisée des animaux inclus dans le prélèvement, il sera nécessaire d'attester que le bovin objet de la garantie entrainait bien dans la constitution du mélange analysé. Pour cette raison, un résultat unique ne peut être

retenu pour inscrire l'animal sur une liste de bovins non-IPI. Une seconde analyse PCR sur lait de tank, distante de 3 à 6 mois, est nécessaire. (Cf. § II. 4.)

En dépit d'un manque de références réelles concernant leurs caractéristiques techniques, l'expérience permet de reconnaître aux **trois types de tests, sur le sang et/ou sur le lait, des performances satisfaisantes**, tant en termes de sensibilité que de spécificité. **Ces tests sont donc de ce fait utilisables dans le cadre d'un apport de garanties à l'égard de la BVD.** En revanche, les analyses ELISA sur prélèvements cutanés ne peuvent actuellement être retenues, du fait d'un manque de recul concernant cette technique.

- **Limites des outils utilisables ; conséquences**

Quelle que soit la technique utilisée, deux types de limites se présentent toujours :

- par défaut : des animaux IPI ne seront pas détectés ;
- par excès : des animaux fourniront à l'analyse un résultat positif alors qu'ils ne sont pas IPI.

Pour l'antigénémie et la culture cellulaire, les erreurs par défaut sont fréquentes lors d'utilisation sur des animaux de moins de 6 mois, chez lesquels la présence d'anticorps maternels diminue fortement la sensibilité de ces tests. **Un résultat négatif en antigénémie ou culture cellulaire ne pourra donc être pris en compte pour le statut de non-IPI que s'il est obtenu sur un bovin âgé de 6 mois au moins. En ce qui concerne la technique PCR, son excellente sensibilité permet d'obtenir des résultats fiables quel que soit l'âge de l'animal testé.**

Les erreurs par excès se produiront majoritairement sur des bovins en phase de virémie transitoire, lors de dépistage par PCR ou culture cellulaire et, dans une moindre mesure, par antigénémie. En effet ces animaux sont, comme les IPI, porteurs du virus, même si c'est en quantités moindres. Dans ce cas les résultats négatifs de deux tests virologiques ultérieurs, ou d'une virologie associée à une séropositivité P80, fourniront la preuve de la virémie transitoire, et permettront d'accorder au bovin le statut de non-IPI.

## **2. Techniques sérologiques**

- **Principe ; outils disponibles**

Ces techniques reposent sur la mise en évidence des témoins du contact, plus ou moins récent, d'un animal avec le virus, que sont les anticorps. Elles fournissent un résultat positif, que le virus BVD incriminé soit d'origine sauvage ou vaccinale.

Or, en règle générale, les IPI ne produisent pas d'anticorps contre les antigènes communs aux différentes souches de BVDV, type P80 : un bovin séropositif P80 pourra donc être considéré comme non-IPI.

En revanche, un bovin présentant une sérologie positive à l'égard d'un antigène variable d'une souche virale à l'autre peut malgré tout être IPI. En effet, tolérant à l'égard de la souche « X », il développera, en cas de contact avec une souche « Y », des anticorps spécifiques à cette dernière, qui positiveront les recherches sérologiques correspondantes.

**Seules les techniques sérologiques utilisant des anticorps communs à toutes les souches virales seront donc utilisables dans le cadre d'un apport de garanties pour le statut de non-IPI. Il s'agit en pratique de la sérologie ELISA P80.**

- **Principales caractéristiques des outils utilisables**

La sérologie ELISA P80 est disponible sur prélèvements de sang et de lait, sous forme d'analyses individuelles et de mélange. Néanmoins, son utilisation dans le cadre de la connaissance du statut d'un animal donné devra bien entendu être limitée aux analyses individuelles positives, le fait d'appartenir à un mélange positif ne constituant nullement une preuve que l'animal considéré soit lui-même porteur d'anticorps.

Comme pour les techniques virologiques, l'expérience acquise conduit à lui reconnaître **des caractéristiques de sensibilité et de spécificité suffisantes pour** permettre son utilisation dans le cadre de **l'apport de garanties à l'égard de la BVD.**

- **Limites des outils utilisables ; conséquences**

Comme la virologie, la sérologie connaît des limites par défaut et par excès.

Dans le cas précis de la recherche d'anticorps anti-BVD, les erreurs les plus fréquentes se produiront par excès, sur de jeunes animaux porteurs d'anticorps maternels. En effet l'analyse pourra alors fournir un résultat positif par détection des anticorps de la mère, alors que l'animal lui-même est inapte à en produire. Dans ces conditions, des IPI sont donc susceptibles de présenter une sérologie positive. **Un résultat positif en sérologie ne pourra par conséquent être pris en compte pour le statut de non-IPI que s'il est obtenu sur un bovin âgé de 6 mois au moins.**

A l'inverse, la plupart des bovins présentant une sérologie négative ne sont, fort heureusement, pas IPI, mais n'ont tout simplement jamais été en contact avec le BVDV. A ceux-là, le résultat négatif d'une recherche virologique permettra d'accorder le statut de non-IPI.

### **3. Cas des veaux âgés de moins de 6 mois**

Chez ce type de bovins, la présence possible d'anticorps maternels est susceptible de perturber la détection du virus, rendant peu fiables les résultats obtenus en virologie, sauf pour la technique PCR (cf. § I. 1. « Limites des outils utilisables »).

Cependant, si une analyse sérologique, effectuée concomitamment, apporte la preuve de l'absence d'anticorps maternels, un résultat négatif en virologie peut alors tout à fait valablement être pris en compte.

**En conséquence, les veaux âgés de moins de 6 mois négatifs en PCR, ou présentant à la fois une virologie et une sérologie individuelle négatives, pourront bénéficier du statut de non-IPI.**

## II. Critères prenant en compte des analyses réalisées sur tout ou partie du troupeau

Certains élevages, du fait d'un suivi réalisé à titre individuel ou collectif, bénéficient d'une connaissance du statut de tout ou partie de leurs animaux à l'égard de la BVD, susceptible d'être utilisée lors de demande de garanties vis à vis de cette maladie.

Différentes méthodes peuvent être mises en œuvre pour l'acquisition d'une telle connaissance. Pour pouvoir être prises en compte dans le cadre d'un apport de garanties à l'égard de la BVD, elles ne doivent recourir qu'aux techniques d'analyses retenues ci-dessus, assorties des éventuelles restrictions énoncées.

### 1. Bovin appartenant à un lot **au moins séronégatif à 80 %**

Lorsqu'un lot de bovins héberge un IPI, celui-ci provoque la séroconversion de la majorité de ses congénères, qui apparaissent donc séropositifs.

*A contrario*, lorsque la plupart des animaux d'un lot sont séronégatifs, il est loisible de présumer qu'aucun de ces animaux n'est IPI.

Cette démarche, pour être utilisable dans le cadre d'un apport de garanties à l'égard de la BVD, doit néanmoins être appliquée à un lot de taille suffisante, constitué depuis suffisamment longtemps (cf. cahier des charges national CC/BVD/01), composé de bovins âgés de 6 mois au moins et testés individuellement en sérologie.

### 2. Vache laitière appartenant à un troupeau **au moins séronégatif à 90 % sur la dernière analyse, et au moins séronégatif à 70 % sur la précédente**

Le raisonnement précédent peut être appliqué aux troupeaux de vaches laitières **régulièrement** testés en sérologie sur le lait de tank **(au moins 3 analyses distantes de 4 à 8 mois)**, dans la mesure où l'animal objet de la garantie est présent dans l'élevage, et en lactation, avec une antériorité suffisante (cf. cahier des charges national CC/BVD/01) par rapport au résultat sérologique considéré.

### 3. Vache laitière appartenant à un troupeau **n'atteignant pas le critère précédent, mais au moins séronégatif à 70 % sur les 2 dernières analyses**

La démarche précédente peut être élargie aux troupeaux majoritairement séronégatifs, mais n'atteignant pas un taux de 90 %. Pour ce faire, la chronologie des résultats sérologiques obtenus sur le lait de tank doit fournir la preuve que le nombre de bovins séropositifs est stable ou décroissant dans le temps (cf. cahier des charges national CC/BVD/01).

Néanmoins, l'apport de garanties à l'égard de la BVD doit dans ce cas être limité aux vaches dont le rang de lactation est supérieur ou égal à 2.

### 4. Vache laitière appartenant à un troupeau **ayant obtenu deux résultats négatifs en PCR sur le lait de tank**

Le recours à deux tests PCR, dans la mesure où ils sont séparés par un intervalle de temps de 3 à 6 mois, permet de couvrir, en termes d'analyses, toutes les vaches du troupeau ayant vêlé au moins une fois à la date du second prélèvement.

L'utilisation de ce type de critère rend caduque la nécessité de prouver que l'animal objet de la garantie entrainait bien dans la constitution du prélèvement analysé, exposée au chapitre précédent.

### III. Synthèse : référentiel du statut de « bovin non-IPI »

Peut être considéré comme « non-IPI » tout bovin entrant dans l'une des catégories suivantes :

| Critère utilisé   | Conditions associées requises  |
|---|--|
| 1. Animal ayant présenté un résultat négatif individuel en antigénémie ELISA ou culture cellulaire  | Prélèvement : sang ou lait<br>Age : > 6 mois au moment de l'analyse  |
| 2. Animal ayant présenté un résultat négatif en PCR individuelle ou de mélange, sur prélèvement sang ou lait                                    | Valable quel que soit l'âge du bovin<br>Analyses sur lait de tank : délivrance d'une attestation « non-IPI » impossible                                    |
| 3. Animal ayant présenté un résultat positif en sérologie P80 individuelle  | Prélèvement : sang ou lait<br>Age : > 6 mois au moment de l'analyse  |
| 4. Animal ayant présenté simultanément un résultat négatif en virologie et en sérologie   | Virologie : cf. critère 1.<br>Sérologie individuelle sur sang<br>Valable quel que soit l'âge du bovin  |
| 5. Bovin appartenant à un lot au moins séronégatif à 80 %   | Analyse : sérologie individuelle sur sang - Age des bovins du lot : > 6 mois   |
| 6. Vache laitière appartenant à un troupeau au moins séronégatif à 90% sur la dernière analyse, et au moins séronégatif à 70% sur la précédente | Analyses : au moins 3 sérologies P80 sur lait de tank, distantes de 4 à 8 mois<br>Durées à considérer : présence de l'animal dans le troupeau ; lactation  |
| 7. Vache laitière appartenant à un troupeau n'atteignant pas le critère 6, mais au moins séronégatif à 70% sur les 2 dernières analyses         | Analyses : au moins 3 sérologies P80 sur lait de tank, distantes de 4 à 8 mois<br>Rang de lactation : > 1 ; temps de présence de l'animal dans le troupeau |
| 8. Vache laitière appartenant à un troupeau ayant obtenu deux résultats PCR négatifs  | Analyses : PCR, lait de tank ;<br>intervalle : 3 à 6 mois  |

Les critères 5, 6, 7 et 8 sont soumis à validation par l'organisme à vocation sanitaire agréé, gestionnaire de la BVD, conformément au cahier des charges national CC/BVD/01.

Toutes les analyses doivent avoir été réalisées conformément aux préconisations du fabricant du kit de diagnostic utilisé.