

PREMIÈRES ÉVALUATIONS DE L'INTÉRÊT DE LA SÉROLOGIE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE BOVINE EN FRANCE *

Jean-Louis Moyen¹, Eric Gueneau², Nicolas Keck³, Hélène Gares¹ et Maria-Laura Boschioli⁴

RÉSUMÉ

Le diagnostic indirect de la tuberculose bovine repose essentiellement sur les intradermotuberculinations (IDT). Les IDT présentent de bonnes caractéristiques intrinsèques, qui peuvent néanmoins être significativement dégradées par les conditions de réalisation et des réactions croisées. Le test de dosage de l'interféron gamma (IFN) est pénalisé par une logistique lourde et un coût élevé ce qui en réserve l'utilisation à des contextes particuliers. La sérologie, largement employée dans la prophylaxie de nombreuses maladies animales, est rapide, pratique et économique. Son emploi en cheptel allaitant ou dans les races de taureaux de combat est beaucoup plus simple que les IDT qui exigent deux interventions à trois jours d'intervalle. Cependant, la sensibilité plus faible pour le diagnostic des infections par les mycobactéries et le délai parfois très long d'apparition des anticorps limitaient considérablement les conditions dans lesquelles la sérologie pouvait être employée. L'arrivée de nouveaux antigènes, spécifiques des mycobactéries du complexe de *M. tuberculosis* (MTC), a permis la mise au point d'outils sérologiques prometteurs. Les premiers essais réalisés dans différents pays où la tuberculose bovine est présente de façon enzootique ont donné de bons résultats (Se : 60-90 %). Ceci a conduit à mener de premières évaluations « terrain » en France d'un kit sérologique commercial (Idexx). Des essais de spécificité et de sensibilité ont été menés en Camargue, en Côte-d'Or et en Dordogne. Le taux de spécificité est bon et homogène entre les différentes races, régions et laboratoires (96,9 à 99,7 %). La sensibilité, acceptable dans des cheptels Camarguais anciennement infectés (environ 50 %), est mauvaise en races allaitantes ou laitières (0 à 30 %). Ces résultats décevants contrastent fortement avec ceux obtenus dans d'autres pays. La prévalence intra-cheptel, généralement très faible en France, associée à la détection souvent précoce des foyers pourrait expliquer cette forte différence de valeur intrinsèque. D'autres essais sur des animaux préalablement tuberculés ont été réalisés pour évaluer l'intérêt d'une éventuelle réaction anamnesticque en vue d'améliorer la sensibilité du test. Les résultats de ces essais, encore peu nombreux, sont encourageants (Se : 50-60 %) et proches de ceux obtenus dans d'autres pays pour un usage similaire. Ils doivent néanmoins être confirmés et validés sur un effectif plus important. La sérologie pourrait ainsi être utilisée sur des animaux préalablement tuberculés, comme outil complémentaire aux tests à médiation cellulaire afin d'augmenter la sensibilité de détection des animaux infectés, notamment des anergiques.

Mots-clés : tuberculose, bovin, diagnostic, dépistage, sérologie, effet anamnesticque.

* Texte de la conférence présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA-RFSA, 18 mars 2014

¹ Laboratoire départemental d'analyses et de recherche de Dordogne, 161 Avenue Churchill, 24660 Coulounieix-Chamiers, France

² Laboratoire départemental de la Côte-d'Or, Rue Hoche, 21000 Dijon, France

³ Laboratoire départemental vétérinaire de l'Hérault, 34000 Montpellier, France

⁴ Laboratoire national de référence tuberculose bovine, Unité Zoonoses Bactériennes, Laboratoire de santé animale, Anses, 23, avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort cedex, France

SUMMARY

Bovine tuberculosis (bTB) diagnosis relies mainly on skin test (ST), which shows good intrinsic characteristics that can however be significantly hampered by field performing conditions and cross reactions. The difficulties with the interferon gamma test are related to its very complicated logistics and its high cost, which constrains its use to particular contexts. Serology is largely employed in prophylactic campaigns against many animal diseases. It is rapid, practical and quite affordable. Its use in beef or in bullfighting herds is simpler than for ST which needs two veterinary interventions at a 3-days interval. However, sensitivity for mycobacterioses diagnosis is reduced and antibody high titers are detected too late after infection which makes its use impossible for an early detection of bTB infection. New specific antigens of the *M. tuberculosis complex* (MTC) species have led to promising serologic tools. The first assays performed in different countries where bTB is enzootic have shown good results (Se : 60-90%). This has led to first field evaluation in France with the IDEXX serologic kit *M. bovis*. Specificity and sensitivity tests have been conducted in Camargue, Côte-d'Or and in Dordogne. Specificity is good and homogeneous among different breeds, regions and laboratories (96.9 to 99.7%). In contrast, sensitivity is acceptable in bullfighting animals with lesion (average 50%) but disappointing in milk or beef cattle (0 to 30%). The very low inside-herd prevalence, associated to the early detection of infected herds could explain those results, which contrast with those obtained in other countries. Additional tests were performed in animals from infected herds previously tested by IDT, in order to take advantage of a possible anamnestic response. Preliminary results, even though not numerous, are quite encouraging (Se : 50-60%) and close to those obtained by other countries when a similar use was employed. Nonetheless, they have to be confirmed and validated in a more important number of animals. Serology could be used in animals previously skin tested as a complementary tool to cellular mediated immunology based tests, in order to increase detection sensitivity in infected herds, particularly for anergic animals.

Keywords: Tuberculosis, Bovine, Diagnosis, Screening, Serology, Booster effect.



I - INTRODUCTION

Les stratégies d'éradication à moyen et long terme de la tuberculose sont réétudiées dans de nombreux pays pour intégrer :

- La perte de valeur prédictive des tests, accompagnant la baisse de prévalence,
- Les nouvelles méthodes diagnostiques,
- La problématique des réservoirs dans la faune sauvage,
- La prise en compte du bien-être animal et les coûts financiers dans les stratégies d'assainissement,
- Les contraintes du commerce international.

Dans les élevages français, la prévalence très faible de la tuberculose bovine s'accompagne d'une dégradation des caractéristiques intrinsèques des

tests utilisés. Dans ces conditions, l'introduction de nouveaux tests et de nouveaux schémas décisionnels permettra d'améliorer l'efficacité de la lutte par une meilleure détection des animaux infectés tout en réduisant le nombre d'animaux abattus à tort [de la Rua-Domenech *et al.*, 2006 ; Schiller *et al.*, 2010 ; Keck *et al.*, 2014]. Le dispositif de surveillance doit néanmoins être conforme à la réglementation nationale et communautaire.

L'infection d'un bovin par la mycobactérie tuberculeuse peut conduire à différents statuts selon la dose d'infection, la souche, la voie d'inoculation et le statut immunitaire de l'animal. La guérison est possible dans certains cas, la latence également et l'évolution clinique peut être plus ou moins rapide, voire absente. En parallèle à ces évolutions cliniques la réponse immunologique de l'hôte est également variable. La réaction de

l'organisme à l'infection tuberculeuse, principalement cellulaire vise à la défense de l'organisme et à la formation du granulome inflammatoire chronique caractéristique. L'apparition des anticorps est plus tardive et correspond soit à l'évolution clinique soit à une exposition répétée aux antigènes [de la Rua-Domenech *et al.*, 2006].

La réponse fondée sur l'immunité cellulaire peut être détectée précocement (une à trois semaines pour l'IFN ; à partir de trois semaines pour les IDT) Les mécanismes sont légèrement différents, ce qui explique que l'infection de certains animaux ne soit détectée que par l'une ou l'autre de ces techniques et justifie de les utiliser en parallèle. Malgré leur précocité et leur assez bonne sensibilité, les tests fondés sur l'immunité cellulaire présentent certains désavantages [Koo *et al.*, 2005 ; De la Rua-Domenech *et al.*, 2006] :

- L'immunité cellulaire persiste assez longtemps mais peut disparaître par moment (anergie temporaire : vèlage, maladie intercurrente...) ou de façon définitive en fin d'évolution avec l'augmentation de la charge bactérienne. Ceci est lié à un basculement de la réponse Th1 vers Th2 [Casal *et al.*, 2014 ; Vordermeier *et al.*, 2004 ; Plackett *et al.*, 1989 ; Mc Nair *et al.*, 2001]. Ce défaut de sensibilité des tests fondés sur la réponse cellulaire est plus élevé en races à viande, et plus encore en races de taureaux de combat. Il s'accroît également avec l'âge. Cet effet ne dépend pas seulement des conditions de réalisation et de lecture des IDT car il est également observé avec le test IFN [Alvarez *et al.*, 2014] ;
- Les tests tuberculiques ne peuvent être reproduits à moins de 42 à 60 jours d'intervalle et nécessitent deux manipulations à 72/96 heures d'intervalle. La répétition des tests intradermiques, même en respectant deux mois d'intervalle, entraîne une chute de sensibilité de ces tests [Coad *et al.*, 2010] ;
- Les autres tests fondés sur l'immunité cellulaire sont coûteux et nécessitent à la fois une logistique lourde et un personnel entraîné ;
- Les réactions croisées avec les mycobactéries environnementales perturbent le diagnostic ; leur incidence est très variable selon les régions.

La sérologie, simple, rapide et peu onéreuse n'avait jusqu'à présent pas été considérée comme un outil pertinent à cause de sa sensibilité réduite

et du délai de séro-conversion trop long (90-120 jours) [Plackett *et al.*, 1989 ; De la Rua-Domenech *et al.*, 2006 ; Waters *et al.*, 2011]. Les IgM sont observées de façon précoce (3/4 semaines après l'infection) mais transitoire [Waters *et al.*, 2006]. Les IgG persistent plus longtemps, en ayant une corrélation marquée avec le stade lésionnel et le niveau d'excrétion [Waters *et al.*, 2011 ; Casal *et al.*, 2014 ; Wiker, 2009].

À l'origine, les tests sérologiques étaient fondés sur des extraits bactériens complexes (tuberculines) contenant des antigènes croisant avec les mycobactéries environnementales [Koo *et al.*, 2005]. La complémentarité entre tests intradermiques et sérologiques avait été mise en oeuvre pour la détection d'animaux anergiques, mais avec une sensibilité et une spécificité limitées. [Plackett *et al.*, 1989]. Des antigènes plus spécifiques sont maintenant disponibles : les antigènes ESAT6/CFP10, MPB70 et MPB83 [Mc Nair *et al.*, 2001 ; Wiker, 2009 ; De la Rua-Domenech *et al.*, 2006 ; Koo *et al.*, 2005 ; Green *et al.*, 2009]. Les antigènes MPB83 (paroi) et MPB70 (secrété) sont produits rapidement par les mycobactéries tuberculeuses [Harboe *et al.*, 1990 ; Lyashchenko *et al.*, 2004 ; Casal *et al.*, 2014].

Différentes combinaisons ont été étudiées et sont présentées sur le marché. L'utilisation de plusieurs antigènes permet d'améliorer les performances des tests [Schiller *et al.*, 2010 ; Waters *et al.*, 2006 ; Lyashchenko *et al.*, 2004].

Ces nouveaux antigènes ont été testés dans différents pays avec des résultats variables mais encourageants (sensibilité allant de 30 % à 95 % ; spécificité autour de 99 %) [Waters *et al.*, 2011 ; Casal *et al.*, 2014]. La sensibilité de détection des animaux infectés s'accroît avec l'aggravation de la maladie [Casal *et al.*, 2014 ; Alvarez *et al.*, 2014 ; Wiker, 2009 ; Lyashchenko *et al.*, 2004]. Dans les pays ayant une prévalence de tuberculose bovine moyenne à élevée, d'autres tests sont utilisés en première intention et sans intradermo tuberculation préalable [Koo *et al.*, 2005 ; Waters *et al.*, 2011].

Des réactions croisées avec *M. kansasii* ont été signalées pour MPB83 en sérologie mais aussi en IFN pour les antigènes MPB83, ESAT6/CFP10 et PPD et en intradermotuberculation. Les réactions sont nettement inférieures à celles observées pour *M. bovis* mais peuvent néanmoins perturber le diagnostic [Waters *et al.*, 2006]. Cet effet n'a pas été mis en évidence dans l'étude du test *M. bovis* Idexx [Waters *et al.*, 2011].

Une caractéristique intéressante de la sérologie est l'effet rappel (booster) obtenu à la suite de l'injection de tuberculine (réaction anamnestic). Lors d'infection d'animaux en bonne santé par des charges bactériennes faibles et non répétées, la réponse immunitaire humorale est souvent fugace. Par contre, l'exposition ultérieure de ces animaux aux antigènes tuberculiques peut provoquer une production rapide d'anticorps spécifiques [Harboe *et al.*, 1990]. Cette réaction apparaît chez des animaux ayant déjà établi une immunité cellulaire au moment du test IDT. Elle serait maximale trois semaines après l'IDT [Thom *et al.*, 2006] et plus ou moins soutenue dans le temps les anticorps seraient détectables jusqu'à 60 jours après l'injection de PPD [Palmer *et al.*, 2006; Thom 2004]. Ils ne croisent ni avec *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ni avec la souche BCG vaccinale. Seules quelques souches BCG ont conservé une

capacité très réduite à produire MPB 70 et MPB 83 mais elles ne sont plus utilisées comme vaccin [Wiker, 2009].

La production des anticorps peut être détectée à partir du 7^{ème} jour après l'injection de tuberculine bovine [Thom *et al.*, 2004]. Une seconde injection, en particulier à J55 après la première IDT, augmenterait encore la quantité d'anticorps produits [Palmer *et al.*, 2006]. Cet effet est mis à profit dans l'assainissement fondé sur l'IDT dans des cheptels infectés en Irlande. Dans le contexte irlandais, la sensibilité est de l'ordre de 80 % [Good, 2010]. Les animaux non infectés ne produisent pas d'anticorps après les IDT même successives [Thom *et al.*, 2004 ; Thom *et al.*, 2006].

L'objectif de cette première étude est d'évaluer les caractéristiques et l'intérêt de la sérologie dans les contextes épidémiologiques français.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. POPULATION D'ÉTUDE

1.1. ÉTUDE DE LA SPÉCIFICITÉ

Trois zones d'enquête (Côte-d'Or, Dordogne et Hérault) ont été choisies pour intégrer la diversité des races, des méthodes de production et des facteurs environnementaux. Dans chaque zone, des échantillonnages ont été réalisés dans différents cheptels officiellement indemnes de tuberculose bovine. La composition des populations figure dans le tableau 1. En Côte-d'Or, la spécificité a également été évaluée sur des bovins issus de cheptels officiellement indemnes et ayant présenté une réaction croisée faussement douteuse à l'intradermotuberculation comparative (IDC).

1.2. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ

L'étude a porté sur des animaux stimulés ou non préalablement par une intradermotuberculation afin d'évaluer l'effet rappel (réaction anamnestic) consécutif à l'IDT.

1.2.1. Population infectée non sensibilisée par IDT

Camargue : 83 animaux porteurs de lésion issus de cheptels infectés.

Côte-d'Or : 22 animaux confirmés infectés par analyse bactériologique et/ou PCR.

Dordogne : 164 animaux confirmés infectés par analyse bactériologique et/ou PCR.

1.2.2. Population infectée sensibilisée par ID

Une comparaison de la sérologie aux autres méthodes de dépistage (IDT et IFNg) a été menée de façon systématique dans trois cheptels infectés en Dordogne. La sensibilité de chacune des méthodes a été établie par rapport à la mise en évidence de l'agent pathogène par diagnostic direct (PCR et/ou bactériologie).

Les résultats des trois cheptels sont présentés séparément car ils ne sont pas superposables (différents tests ante-mortem, différentes séquences diagnostiques).

Élevage 1

Des tests sérologiques et IFN ont été réalisés simultanément ou consécutivement aux deux IDT réalisées (IDS puis IDC 45 jours après l'IDS). Quarante animaux sur 92 présentaient des résultats *ante mortem* positifs dont 28 ont été

confirmés infectés par examen PCR et/ou analyse bactériologique.

Élevage 2

Soixante neuf bovins testés *ante mortem* par IDT et IFN dont 13 confirmés infectés, parmi lesquels cinq ont donné une réponse positive en IDT et 10 en IFN. Six de ces animaux ont pu être testés en sérologie.

Élevage 3

Soixante dix sept bovins ont été testés sur 82 ; quatre présentaient une réaction positive en IDT, quatre une réaction douteuse et 16 une réaction positive en IFN. Parmi les bovins abattus, huit ont été confirmés infectés, parmi lesquels six ont été testés en sérologie.

2. TESTS UTILISÉS

Sérologie : Le test sérologique évalué dans cette étude est le test *M. bovis* Elisa de la société Idexx. Ce test est certifié par l'OIE comme test complémentaire dans le diagnostic de la tuberculose bovine.

IFN : Le test interféron gamma utilisé était le Bovigam B1G (Prionics) avec les antigènes suivants : tuberculines bovine et aviaire de Lelystad (Prionics), cocktail de peptides ESAT6/CFP10.

Culture : La culture a été réalisée suivant la norme Afnor NF U 47 – 104 (méthode de référence en France).

PCR : La PCR a été réalisée avec le kit LSI VetMAXTM Mycobacterium tuberculosis Complex PCR Kit, Life Technologies.

III – RÉSULTATS

1. ENQUÊTES DE SPÉCIFICITÉ

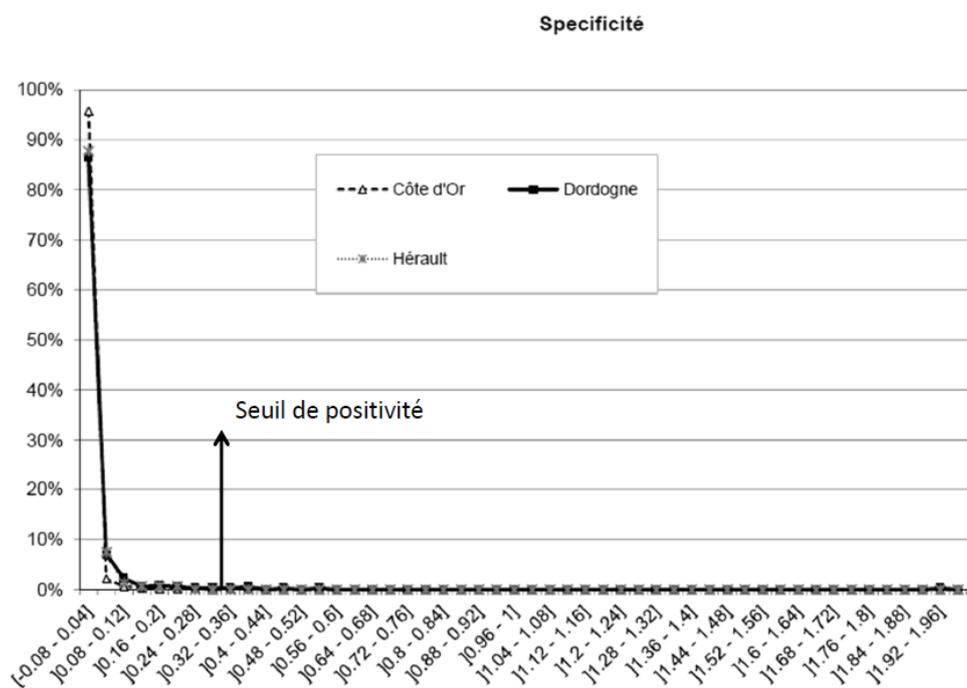
Le tableau 1 reprend l'ensemble des résultats obtenus en cheptels indemnes dans les différentes populations.

La figure 1 montre la distribution des résultats (ratio des DO de l'échantillon/ TP) pour l'ensemble des animaux testés.

Tableau 1
Résultat des enquêtes de spécificité réalisées dans les trois régions

Région	Année	Type d'élevage	Effectif	Nombre de réactions faussement positives	Spécificité apparente (%)
Camargue	2007	Races Camargue et Brave	271	8	97,0 %
	2009/2010		147	2	98,6 %
Côte-d'Or	2010/2011	Cheptels officiellement indemnes sans réaction IDC	318	2	99,4 %
		Animaux faussement douteux en IDC, issus de cheptels officiellement indemnes	321	1	99,7 %
Dordogne	2010/2011	Laitier (11 cheptels)	160	5	96,9 %
	2010/2011	Allaitant (12 cheptels)	185	2	98,9 %
			1 402	20	98,6 %

Figure 1
Distribution des valeurs pour les animaux non infectés



2. ÉTUDE DE SENSIBILITÉ

2.1. ANIMAUX N'AYANT PAS ÉTÉ TUBERCULINÉS AU PRÉALABLE

Les résultats figurent dans le tableau 2.

En Camargue, 52 % d'animaux infectés donnaient une réponse positive en sérologie, 61 % au test IFN. Les deux populations ne se superposaient pas entièrement et l'association des deux techniques a permis de détecter davantage d'animaux infectés.

2.1. UTILISATION DU TEST APRÈS INTRADERMO-TUBERCULINATION (EFFET ANAMNÉSTIQUE)

Élevage 1

Le tableau 3 reprend les différents résultats obtenus dans le premier cheptel par test et par date de réalisation. Les IDT ont été réalisées à J0 et J45.

Trois animaux trouvés positifs en sérologie étaient négatifs à l'IDS, négatifs en IFN pour les peptides ESAT6/CFP10 et positifs seulement en IFN ppd. Les autres animaux positifs en sérologie étaient positifs à au moins un des deux tests IFN (ppd et ESAT6/CFP10) ou IDS.

Tableau 2

Taux de sensibilité dans des populations d'animaux non tuberculinsés

Région	Positifs	Négatifs	Totaux	Se %
Camargue	43	40	83	52
Côte-d'Or	0	22	22	0
Dordogne	29	135	164	18

Tableau 3
Sensibilité de différents tests de dépistage dans un cheptel infecté

Test utilisé	Se J0 1 ère IDS	Se J3 après IDS	Se J24 après IDS	Se J45 après IDS (réalisation IDC)	Se J55 après IDC
Sérologie	0/28		17/28	9/28	17/28
IDS		17/28			
IDC POS				15/28	
IDC POS + Dtx				20/28	
IFN ppd	28/28		26/26		26/28
IFN peptides ESAT6 CFP10			20/26		22/28

L'effet des injections de tuberculines sur la production d'anticorps est donné dans la figure 2.

Le graphe présente les valeurs maximale et minimale ; les premier et troisième quartiles sont délimités par la boîte ; la moyenne est représentée par le point et la médiane par la barre transversale.

Dans cet élevage, on observe après une première IDT une réaction anamnestic marquée à J24

mais qui s'estompe à J45. La seconde injection de tuberculine provoque une réaction plus intense et plus soutenue.

Élevages 2 et 3

Les résultats des deux cheptels ont été regroupés dans le tableau 4.

Figure 2

Intensité de la réponse sérologique (% de positivité) en fonction du temps (N=28) dans le premier élevage

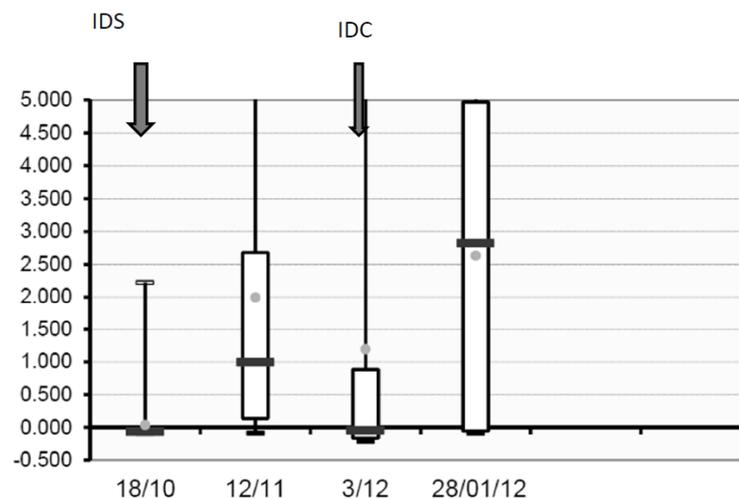


Tableau 4
Sensibilité des tests de dépistage dans les deuxième et troisième foyers étudiés

	Sérologie J0	IDT à J0	IFN à J0	Sérologie J21 IDT
Animaux détectés 2 ^{ème} cheptel	0/6	5/6 dont 3 séronégatifs	6/6	2 positifs, 2 douteux dont 1 IDT négative
Animaux détectés 3 ^{ème} cheptel	0/3	3 dtx 3 négatifs	6/6	5/6 dont 2 IDT négative

III - DISCUSSION

1. SPÉCIFICITÉ

- Les valeurs de spécificité, indépendamment des races, de la région et du type d'élevage, sont très bonnes. En Côte-d'Or, la spécificité en population indemne mais présentant des réactions faussement douteuses en IDC n'est pas inférieure à celle observée dans les cheptels sans aucune réaction à l'IDC.

La distribution (figure 1) montre la séparation nette entre les valeurs obtenues pour les animaux indemnes et le seuil de positivité. La distribution des résultats est comparable entre les trois régions.

- Il n'y a pas encore eu en Dordogne d'essai de spécificité de la sérologie après IDT. Les données de la littérature ne signalent pas d'effet sur la spécificité [Thom *et al.*, 2004 ; Thom *et al.*, 2006].

Des essais réalisés en Côte-d'Or (données personnelles E. Gueneau) n'ont pas non plus démontré une perte de spécificité, même après une seconde IDC. La cinétique après une seconde IDT pourrait donc aider à distinguer les infectés présentant une augmentation du taux d'anticorps des réactions croisées.

2. SENSIBILITÉ

- En l'absence d'IDT préalable, la sensibilité, correcte en Camargue sur les animaux porteurs de lésions et probablement infectés depuis plusieurs mois, est très décevante dans les autres régions.

Cette grande variabilité de sensibilité correspond à ce qui a été publié pour les zones à faible prévalence et celles où les infections sont détectées précocement [Casal *et al.*, 2014 ; Plackett *et al.*, 1989 ; De la Rua *et al.*, 2006]. L'emploi de la sérologie en test initial de dépistage n'est pas pertinent dans ces zones. Par contre, la détection de cas ignorés par les tests à immunité cellulaire en fait un outil complémentaire utile dans les élevages où l'infection est ancienne comme c'était le cas lors de l'étude réalisée en Camargue.

- L'utilisation de la sérologie après une injection de tuberculine est nettement plus prometteuse. Dans le premier élevage on observe après une première IDT une réaction anamnétique marquée à J24 post IDT mais qui s'estompe à J45.

Cette baisse est plus rapide que ce qui est décrit dans la bibliographie [Palmer *et al.*, 2006 ; Thom *et al.*, 2004]. On peut sans doute rapprocher cela de la faible sensibilité initiale due à l'exposition moins forte et moins répétée à *M. bovis* dans les régions française à faible prévalence. La seconde injection de tuberculine provoque une réaction plus intense et plus soutenue. L'élimination rapide des deux autres foyers n'a pas permis de réaliser autant de tests mais les résultats obtenus sont compatibles avec ceux observés dans le premier élevage. La sérologie après IDT présente dans ces foyers une sensibilité comparable à celle de l'IDT et est complémentaire en détectant des animaux omis par celle-ci.

IV - CONCLUSIONS

Les tests fondés sur l'immunité cellulaire ne peuvent, même associés entre eux, détecter tous les animaux infectés d'un cheptel. Le défaut de sensibilité porte en particulier sur des animaux à un stade clinique avancé et donc plus fortement excréteurs. La sérologie utilisée en zone à faible prévalence et dans des infections récentes présente une bonne spécificité associée à une sensibilité faible sur les animaux n'ayant pas eu préalablement d'IDT. Son emploi selon cette modalité dans nos régions reste donc d'un intérêt limité.

Par contre, l'effet rappel à la suite d'une intradermoréaction provoque une production forte d'IgG détectée chez environ 60 % des animaux infectés. Le test permet de détecter quelques animaux non révélés ou partiellement révélés (animaux divergents au test IFN) par les tests fondés sur l'immunité cellulaire. Il vient donc utilement renforcer les outils de dépistage dans l'assainissement des troupeaux connus infectés et sécurise les protocoles d'abattage sélectif. Cet intérêt est renforcé par la taille croissante des cheptels et le risque potentiellement plus grand

d'existence d'animaux non détectés par les tests fondés sur l'immunité cellulaire.

Selon ces résultats préliminaires, il ne serait pas utile de réaliser la prise de sang pour sérologie à la lecture de l'IDT et peu souhaitable de la réaliser le jour de l'injection ou à la lecture de la seconde IDT. Une prise de sang entre J10 et J24 après la première IDT serait optimale. Ceci nécessiterait une intervention supplémentaire en élevage mais permettrait d'optimiser la sensibilité et surtout d'éliminer plus rapidement les infectés. Un nouveau contrôle sérologique après une seconde IDT peut être réalisé avec profit car la réponse des animaux infectés est plus forte et plus durable sans affecter la spécificité. L'effet plus soutenu permettrait alors de réaliser la prise de sang lors des contrôles successifs prévus dans les protocoles d'assainissement.

Des études complémentaires pourront à la fois confirmer ces premiers résultats qui portent sur un nombre limité d'animaux et évaluer l'intérêt d'élargir l'emploi de la sérologie à d'autres utilisations après injection de tuberculines.

BIBLIOGRAPHIE

Álvarez J., Perez A., Marqués S., Bezos J., Grau A., de la Cruz M.L., Romero B., Saez J.L., del Rosario Esquivel M., del Carmen Martínez M., Mínguez O., de Juan L., Domínguez L. - Risk factors associated with negative *in-vivo* diagnostic results in bovine tuberculosis-infected cattle in Spain. *BMC Vet. Res.*, 2014, **10**, 14.

Casal C., Diez-Guerrier A., Alvarez J., Rodriguez-Campos S., Mateos A., Linscott R., Martel E., Lawrence J., Whelan C., Clarke J., O'Brien A., Dominguez L., Aranaz A. - Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Vet. Microbiol.*, 2014, **170**, 342-351.

Coad M., Clifford D., Rhodes S.G., Hewinson R.G., Vordermeier H.M., Whelan A. - Repeat

tuberculin skin testing leads to desensitisation in naturally infected tuberculous cattle which is associated with elevated interleukin-10 and decreased interleukin-1 beta responses. *Vet. Res.*, 2010, **41**, 14.

De la Rúa-Domenech R., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S. - Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Res. Vet. Sci.*, 2006, **81**, 190-210.

Good M., Duignan A., Maher P., O'Keeffe J. - Veterinary handbook for herd management in the bovine TB eradication programme. Department of agriculture, fisheries and food ROI, 2010, 156 pages.

- Green L.R., Jones C.C., Sherwood A.S., Garkavi I.V., Cangelosi G.A., Thacker T.C., Palmer M.V., Waters W.R., Rathe C.V. - Single-Antigen Serological Testing for Bovine Tuberculosis. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2009, **16**, 1309-1313.
- Harboe M., Wiker H.G., Duncan I.J.R., Garcia M.M., Dukes T.W., Brooks B.W., Turcotte C., Nagai S. - Protein G-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Anti-MPB70 Antibodies in Bovine Tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 913-921.
- Keck N., Moyen J.-L., Gueneau E., Boschirolì M.-L. - Particularités du dépistage et du diagnostic de la tuberculose bovine *Epidémiol. et santé anim.*, 2014, **65**, 5-19.
- Koo H.C., Park, A.J., Waters W.R., Palmer M.V., Hamilton M.J., Barrington G., Mosaad A.A., Park K.T., Jung W.K., Hwang I.Y., Cho S.-N., Shin S.J., Davis W.C. - Use of rMPB70 Protein and ESAT-6 Peptide as Antigens for Comparison of the Enzyme-Linked Immunosorbent, Immuno-chromatographic, and Latex Bead Agglutination Assays for Serodiagnosis of Bovine Tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, **43**, 4498-4506.
- Lyashchenko K., Whelan A.O., Greenwald R., Pollock J.M., Andersen P., Hewinson R.G., Vordermeier H.M. - Association of Tuberculin-Boosted Antibody Responses with Pathology and Cell-Mediated Immunity in Cattle Vaccinated with *Mycobacterium bovis* BCG and Infected with *M. Bovis*. *Infect. Immunol.*, 2004, **72**, 2462-2467.
- Mc Nair J., Corbett D.M., Girvin R.M., Mackie D.P., Pollock J.M. - Characterization of the Early Antibody Response in Bovine Tuberculosis: MPB83 is an Early Target with Diagnostic Potential. *Scand. J. Immunol.*, 2001, **53**, 365-371.
- Palmer M.V., Waters W.R., Thacker T.C., Greenwald R., Esfandiari J., Lyashchenko K.P. - Effects of different tuberculin skin-testing regimens on Gamma interferon and antibody responses in cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2006, **3**, 387-394.
- Plackett P, Ripper J., Small K., de Witte K., Melville L., Hides S., Wood Pr - An Elisa for the detection of anergic cattle. *Aust. Vet. J.*, 1989, **66**, 15-19.
- Schiller I., Oesch B., Vordermeier H.M., Palmer M.V., Harris B.N., Orloski K.A., Buddle B.M., Thacker T.C., Lyashchenko K.P., Waters W.R. - Bovine Tuberculosis: A Review of Current and Emerging Diagnostic Techniques in View of their Relevance for Disease Control and Eradication *Transb. Emerg. Dis.*, 2010, **57**, 205-220.
- Thom M.L., Morgan J.H., Hope J.C., Villarreal-Ramos B., Martin M., Howard C.J. - The effect of repeated tuberculin skin testing of cattle on immune responses and disease following experimental infection with *Mycobacterium bovis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2004, **102**, 399-412.
- Thom M.L., Hope J.C., McAulay M., Villarreal-Ramos B., Coffey T.J., Stephens S., Vordermeier H.M., Howard C.J. - The effect of tuberculin testing on the development of cell-mediated immune responses during *Mycobacterium bovis* infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2006, **114**, 25-36.
- Vordermeier M., Goodchild A., Clifton-Hadley R., de la Rúa R. - The interferon-gamma field trial: background, principles and progress. *Vet. Rec.*, 2004, **155**, 37-38.
- Waters W.R., Palmer M.V., Bannantine J.P., Whipple D.L., Greenwald R., Esfandiari J., Anderson P., McNair J., Pollock J.M., Lyashchenko K.P. - Antigen recognition by serum antibodies in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2004, **11**, 849-855.
- Waters W.R., Palmer M.V., Thacker T.C., Bannantine J.P., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Greenwald R., Esfandiari J., McNair J., Pollock J.M., Andersen P., Lyashchenko K.P. - Early Antibody Responses to Experimental *Mycobacterium bovis* Infection of Cattle. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2006, **13**, 648-654.
- Waters W.R., Palmer M.V., Thacker T.C., Payeur J.B., Harris N.B., Minion F.C., Greenwald R., Esfandiari J., Andersen P., McNair J., Pollock J.M., Lyashchenko K.P. - Immune Responses to Defined Antigens of *Mycobacterium bovis* in Cattle Experimentally Infected with *Mycobacterium kansasii*. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2006, **13**, 611-619.

Waters W.R., Buddle B.M., Vordermeier H.M., Gormley E., Palmer M.V., Thacker T.C., Bannantine J.P., Stabel J.R., Linscott R., Martel E., Milian F., Foshaug W., Lawrence J.C. - Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for use in the

detection of bovine tuberculosis in cattle. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011, **18**, 1882-1888.

Wiker H.G. - MPB70 and MPB83 - Major Antigens of *Mycobacterium bovis*. *Scand. J. Immunol.* 2009, **69**, 492-499.

