

Santé animale: importance du diagnostic des maladies infectieuses

Les trousse de diagnostic conçues par les Laboratoires de l'AIEA viennent à l'aide des chercheurs dans le monde entier

par Peter F.
Wright

En quoi les animaux domestiques contribuent-ils au bien-être de l'humanité? On pense d'abord à l'alimentation: la viande, la volaille, les produits laitiers. Les animaux nous donnent aussi la laine et le cuir. Dans certaines régions du monde, les bêtes de trait sont encore indispensables à la ferme et pour le transport.

Plusieurs facteurs peuvent cependant nuire à la stabilité et à la santé des populations animales. Les contraintes environnementales et la mauvaise alimentation limitent sérieusement la productivité animale, plus spécialement dans les pays en développement. Les animaux affaiblis sont d'autant plus sujets à la maladie.

La menace que constituent les maladies infectieuses ou contagieuses se fait sentir dans le monde entier, comme en témoigne le fait que l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Office international des épizooties (OIE) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) publient conjointement chaque année un relevé de l'incidence de la maladie dans leurs pays membres. Cet *Animal Health Yearbook* donne la liste de plus de 140 maladies contagieuses présentant divers degrés de gravité sur le plan socio-économique, pour la santé publique et la santé animale. Y figurent les principales affections des bovins, moutons, chèvres, chevaux, porcs, volailles, lapins, poissons, mollusques, crustacés, sans oublier les abeilles.

Les maladies infectieuses

Ces affections sont provoquées par des micro-organismes. La plupart de celles qui intéressent le vétérinaire sont dues à des virus, à des bactéries ou à des helminthes. Moins nombreuses, mais tout aussi graves, sont les maladies causées par des mycoplasmes, rickettsies, protozoaires et autres agents microbiens.

Plusieurs facteurs contribuent aux effets d'une maladie infectieuse. Sont évidemment très graves les affections qui déciment les adultes ou les jeunes dans une population animale. Certaines s'en prennent à la fonction de reproduction, provoquant la stérilité ou l'avortement. D'autres peuvent nuire sérieusement à la productivité, notamment à la qualité et à la quantité des produits ou du travail fournis par l'animal. Les zoonoses menacent la santé de l'être humain lorsqu'il y a risque de contamination par l'animal. Le degré de gravité assigné à une maladie est fonction de la combinaison de ces divers facteurs.

Les voies de contagion sont diverses. Certains micro-organismes pullulent dans les sécrétions et les excréments des animaux infectés et peuvent se diffuser du fait de la promiscuité ou des rapports sexuels. Certains germes peuvent être emportés au loin par les vents ou les eaux courantes avant de rencontrer un animal récepteur. D'autres se transmettent de la mère au fœtus, et d'autres encore par des piqûres d'insectes. Certains peuvent être transmis à des hôtes de la faune sauvage où ils demeurent latents avant de passer à nouveau à des animaux domestiques. Selon les voies de contagion et les porteurs, certaines maladies sont très difficiles à contrôler et à éliminer.

Certitude du diagnostic

Nombre d'affections ont des symptômes cliniques analogues, ce qui rend le diagnostic précis très difficile en l'absence de tests de laboratoire. Pour diagnostiquer avec certitude une maladie infectieuse, il faut pouvoir identifier l'agent responsable et confirmer sa présence dans le tissu ou le fluide contaminé.

Les techniques classiques utilisées dans les laboratoires pour isoler, cultiver et identifier les micro-organismes sont laborieuses et onéreuses, et exigent une grande compétence et un matériel complexe. Pour utiles qu'elles soient, ces techniques ne sont pas applicables dans n'importe quel laboratoire pour les diagnostics de routine à grande échelle.

M. Wright est chef de la section de la production animale des Laboratoires de l'AIEA à Seibersdorf.

Les derniers perfectionnements de la biotechnologie, telles les sondes à acide nucléique, permettront prochainement sans nul doute une identification rapide et économique, mais on estime qu'ils n'en sont encore qu'au stade expérimental.

Diagnostic sérologique

En immunologie, un agent infectieux se compose de grandes molécules organiques que l'animal hôte reconnaît comme lui étant étrangères. La réponse immunologique à cet antigène dont chaque organisme héberge une multitude est la production d'anticorps correspondants qui sont la première ligne de défense immunologique.

Ces anticorps ont la propriété de se coller aux antigènes, lesquels sont spécifiques de chaque micro-organisme. Comme les anticorps ne sont produits qu'en présence d'un antigène étranger, l'existence d'un antigène est l'indice d'une contamination sinon d'une infection par un micro-organisme déterminé. La détection des antigènes présents dans le sang et autres fluides est le point de départ du diagnostic sérologique.

Les techniques sérologiques sont utilisées depuis plus de 50 ans pour le diagnostic indicatif des maladies infectieuses. Nombre de tests ont été mis au point, tous plus compliqués les uns que les autres. Globalement, on peut les diviser en deux catégories. Le test sérologique classique exploite les phénomènes qui se produisent lorsque l'anticorps se lie à un antigène spécifique : précipitation des antigènes solubles, agglutination de bactéries ou de globules sanguins, lyse de globules sanguins ou neutralisation du virus infectieux. Bon nombre de ces techniques classiques sont toujours en usage mais elles cèdent peu à peu la place à une méthode de seconde génération, l'analyse de liaison primaire.

De fait, cette technique n'est pas nouvelle puisqu'elle existe depuis plus de 30 ans. La liaison de l'anticorps et de l'antigène au niveau moléculaire n'est pas immédiatement décelable mais, lorsqu'un des composants du système est marqué avec une molécule qui produit un signal ou une substance, la liaison devient détectable et mesurable. On a d'abord utilisé comme marqueurs des radio-isotopes et des colorants fluorescents qui pouvaient se lier chimiquement aux anticorps ou aux antigènes purifiés. Cette radio- ou fluoro-immunoanalyse est encore pratiquée par certains laboratoires. Toutefois, l'immunoanalyse avec enzymes s'est généralisée parce que les réactifs marqués par une enzyme sont intrinsèquement plus stables et ne posent pas de problème sanitaire ou d'évacuation. En choisissant un substrat qui produit une substance colorée après la dégradation enzymatique, la réaction antigène-anticorps que provoque le test peut être détectée visuellement ou mesurée par photométrie. Ces immunoanalyses sont ce que l'on appelle communément les tests ELISA, acronyme de

enzyme-linked immunosorbent assay, qui désigne cette technique depuis 20 ans qu'elle existe.

Immunoanalyses à enzyme

Le diagnostic sérologique n'est pas toujours aussi simple qu'il paraît. Certains antigènes de différents organismes sont suffisamment analogues au niveau moléculaire pour susciter des anticorps susceptibles de réactions croisées donnant un test sérologique faussement positif. On sait aussi que certains types d'anticorps sont plus susceptibles que d'autres de provoquer des réactions faussement positives. Les vaccinations fréquentes contre certaines maladies compliquent aussi le diagnostic sérologique car les antigènes du vaccin provoquent aussi l'apparition d'anticorps qui ne se distinguent pas immédiatement de ceux que produit l'infection.

La plupart des grands laboratoires de recherche vétérinaire du monde s'efforcent d'améliorer les réactifs nécessaires au diagnostic par le procédé ELISA, amélioration qui est possible en l'occurrence, mais ne l'est pas quand il s'agit de techniques sérologiques classiques. Les progrès de la biotechnologie ont eu et continueront d'avoir une grande influence sur les techniques ELISA. L'emploi d'anticorps monoclonaux hautement spécifiques et d'antigènes recombinables parfaitement définis a déjà permis d'améliorer la performance de nombreux diagnostics par la méthode ELISA.

Les programmes de santé animale

Les techniques sérologiques sont l'arme principale des programmes de santé animale dans le monde entier. Elles sont utilisées pour les dépistages séro-épidémiologiques conduisant à déterminer l'existence ou l'incidence de maladies infectieuses parmi des populations animales. Elles servent également au suivi des programmes prophylactiques qui peut impliquer l'examen et l'abattage des animaux contaminés. Les campagnes de vaccination sont également suivies d'un contrôle sérologique visant à déterminer le nombre d'animaux vaccinés et leur réponse aux vaccins. Les techniques sérologiques servent aussi à prévenir la contagion résultant des déplacements d'animaux infectés, dans le pays même ou d'un pays à l'autre.

Vu l'importance capitale de l'information sérologique pour les programmes de santé animale, les résultats des tests doivent permettre de faire un diagnostic aussi exact que possible. Pour qu'un test soit fiable, les réactifs biologiques doivent être stables et la technique à toute épreuve. Pour une application généralisée, le test doit être peu onéreux et rapide. C'est pourquoi on s'efforce en priorité de perfectionner les techniques ELISA, lesquelles sont bien adaptées aux fins de diagnostic pour les laboratoires des pays avancés et des pays en développement.

Laboratoires participant aux travaux sur ELISA

Quinze laboratoires de neuf pays collaborent au perfectionnement de la méthode ELISA avec le Laboratoire d'agronomie de l'AIEA de Seibersdorf; leurs spécialités sont indiquées entre parenthèses.

- **Royaume-Uni** — Institute for Animal Health, Pirbright (peste bovine, peste des petits ruminants, fièvre catarrhale du mouton, fièvre aphteuse); Centre for Tropical Veterinary Medicine, Edinburgh (trichomonose); Central Veterinary Laboratory, Weybridge (brucellose, rhinotrachéite infectieuse des bovins).

- **France** — Institut national de la recherche agronomique, Nouzilly (brucellose); Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, Maison Alfort (peste bovine, peste des petits ruminants, pleuropneumonie contagieuse des bovins).

- **Canada** — Animal Diseases Research Institute, Nepean (brucellose, fièvre catarrhale du mouton, maladie d'Aujeszyk).

- **Australie** — Regional Veterinary Laboratory, Benalla (brucellose, septicémie hémorragique); Long Pocket Laboratories, Indooroopilly (babésiose); Australian Animal Health Laboratory, Geelong (fièvre catarrhale du mouton, maladie de Newcastle).

- **Danemark** — Institut vétérinaire national, Copenhague (leucose enzootique des bovins).

- **Brésil** — Centre panaméricain de la fièvre aphteuse, Rio de Janeiro (fièvre aphteuse).

- **Etats-Unis** — New York State College of Veterinary Medicine, Ithaca (rhinotrachéite bovine infectieuse); National Veterinary Service Laboratory, Ames, Iowa (brucellose, fièvre catarrhale du mouton).

- **Kenya** — International Laboratory for Research on Animal Diseases, Nairobi (trichomonose).

- **Suède** — Institut vétérinaire national, Uppsala (maladie d'Aujeszyk, leucose enzootique des bovins).

Recherche et appui des laboratoires

Le diagnostic des maladies infectieuses est l'un des principaux thèmes du programme de la Division mixte FAO/AIEA des techniques nucléaires dans l'alimentation et l'agriculture. La section de la production animale du Laboratoire d'agronomie de l'AIEA contribue à ce programme en mettant au point et en distribuant des trousse de diagnostic spécialement conçues.

Ces trousse ELISA sont envoyées aux laboratoires où la sérologie fait partie intégrante de la recherche sur certaines maladies infectieuses. En outre, le Laboratoire s'occupe d'autres problèmes de santé animale et distribue notamment des trousse de radio-immunoanalyse (RIA) pour la mesure de la progestérone, hormone de la reproduction, qui sert à étudier et à suivre le cycle de la reproduction chez les bovins, ovins, caprins et camélidés en vue d'améliorer la fécondité. Rien qu'en 1991, plus de 300 de ces trousse (pour environ 125 000 analyses)

ont été envoyées à quelque 60 laboratoires homologues d'Afrique, d'Asie et d'Amérique latine.

Depuis six ans, les maladies infectieuses des bovins ont la priorité, mais on envisage, pour l'avenir proche, de mettre également au point des trousse ELISA pour certaines maladies de la volaille et des porcs.

La section de la production animale du Laboratoire n'entreprend pas de nouvelles recherches sur les réactifs utilisés pour le diagnostic ELISA. Elle se contente d'adapter les réactifs et techniques ELISA actuels à un format de trousse qui réponde aux besoins des laboratoires homologues des pays en développement. Pour ce travail, la section compte beaucoup sur la collaboration des principaux laboratoires de recherche vétérinaire du monde entier. Actuellement, 15 laboratoires coopèrent activement à la mise au point des trousse ELISA et à l'approvisionnement en réactifs (*voir le tableau*).

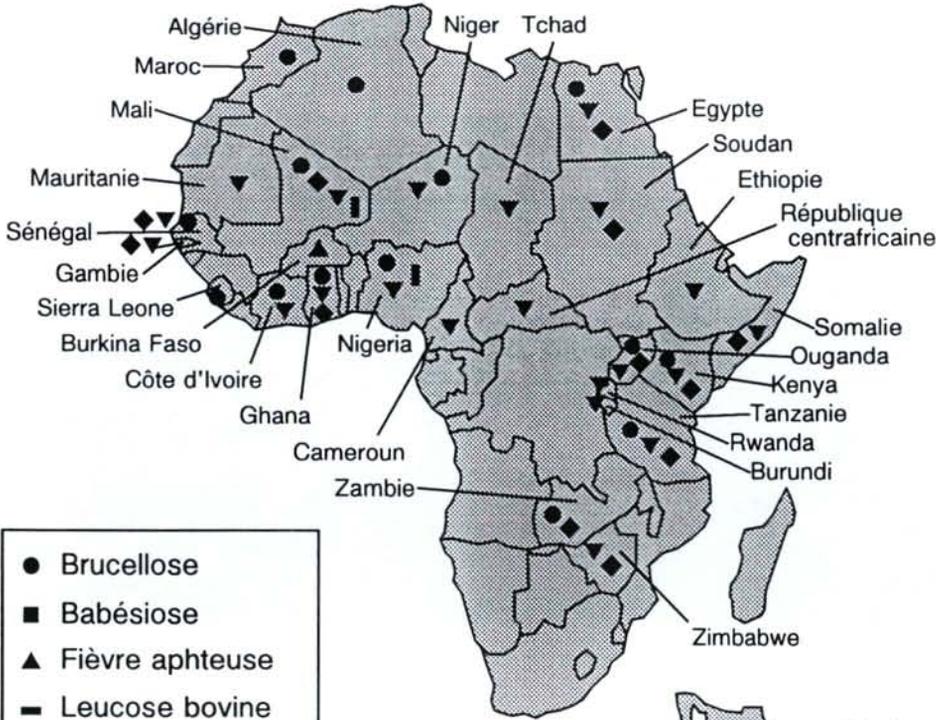
La normalisation et le contrôle de la qualité sont indispensables pour produire ces trousse et assurer l'uniformité des diagnostics au sein d'un même laboratoire et entre divers laboratoires. Des instructions écrites détaillées sont données sur le matériel nécessaire, la préparation et la conservation des réactifs, les méthodes analytiques, le contrôle de la qualité, les critères de validité des données, l'interprétation des résultats et la solution des difficultés.

Tous les prototypes de trousse ELISA doivent être agréés pour le diagnostic avant d'être expédiés aux laboratoires homologues. Cette validation se fait en comparant la performance de la trousse avec celle de la technique sérologique de référence actuelle lors de l'examen de lots déterminés d'échantillons. Pour obtenir une évaluation objective et critique de cette performance, la validation est faite en collaboration avec des laboratoires spécialisés.

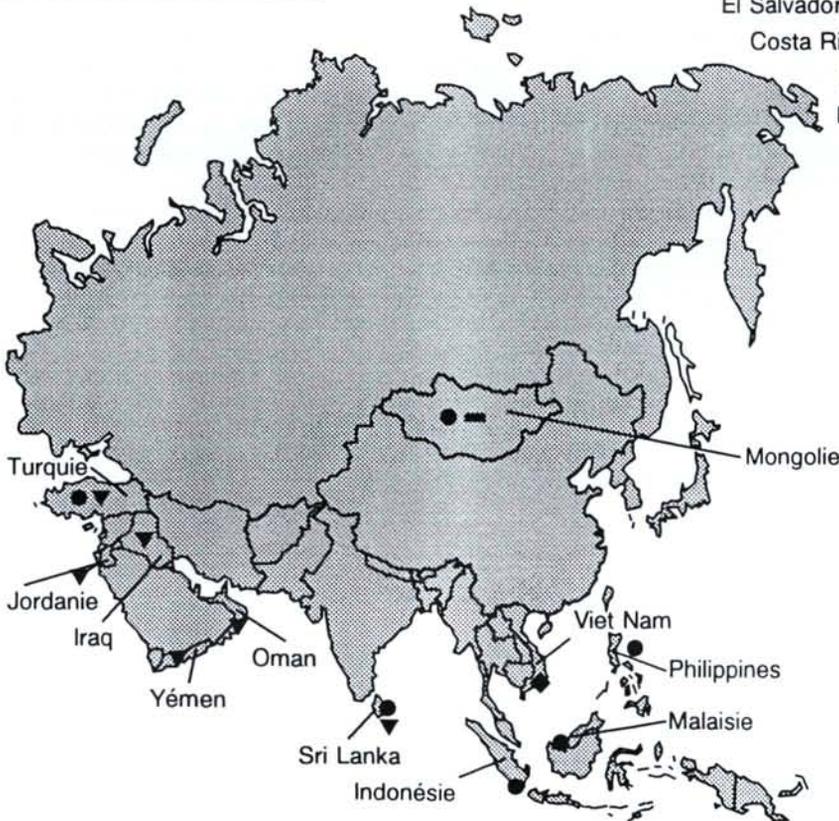
Après normalisation et validation, la trousse est mise en production en vue de sa distribution. Il faut que le personnel des laboratoires destinataires de ces trousse en connaisse le mode d'emploi et sache interpréter les résultats du contrôle de la qualité et des tests. Le rôle principal de la section à cet égard consiste à aider techniquement la Division mixte FAO/AIEA à assurer cette formation.

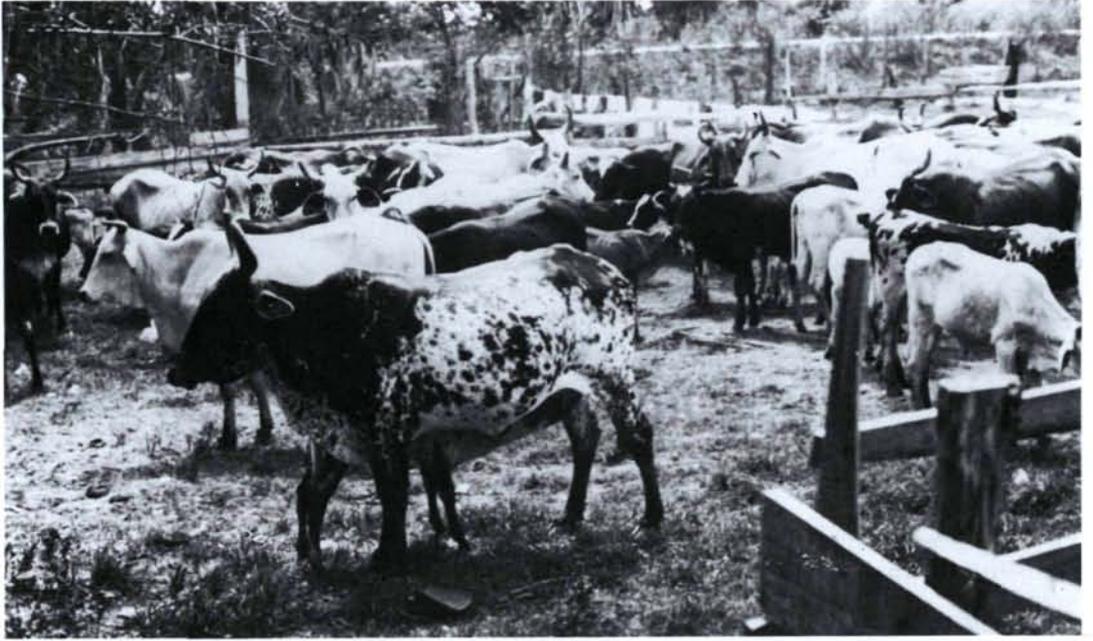
Il arrive souvent que des laboratoires homologues demandent une aide technique pour résoudre des problèmes locaux touchant à la performance de la trousse, par exemple un mauvais fonctionnement du matériel, l'altération des réactifs ou la mauvaise qualité de l'eau. Cette dernière, en particulier, est peut-être le facteur le plus critique car la préparation des réactifs et les méthodes analytiques en sérologie exigent des solutions tampons aqueuses. La section étudie des remèdes à ces difficultés pour aider les scientifiques locaux à les résoudre eux-mêmes. Elle propose également un service de réparation du matériel assuré en collaboration avec la section d'instrumentation des Laboratoires de Seibersdorf.

Les spécialistes de la santé animale de quelque 75 laboratoires d'Amérique latine, d'Afrique, d'Asie et du Pacifique utilisent des trousse de diagnostic conçues par les Laboratoires de l'AIEA de Seibersdorf.



- Brucellose
- Babésiose
- ▲ Fièvre aphteuse
- ▬ Leucose bovine
- ▼ Peste bovine
- ◆ Trypanosomiase
- ▮ Rhinotrachéite infectieuse bovine





Animaux «laitiers» classiques du Pérou.

Enfin, la dernière disposition prise dans l'intérêt des utilisateurs de trousses consiste en un contrôle extérieur de la qualité. Les vérifications de routine sont complétées par des essais périodiques de lots d'échantillons de contrôle par des laboratoires homologues qui ignorent *a priori* les propriétés du réactif, ce qui garantit l'objectivité du contrôle chimique et analytique. Ce contrôle donne confiance aux homologues et facilite l'acceptation internationale des résultats.

Des trousses ELISA pour les anticorps ont été préparées pour les principales affections suivantes: peste bovine, brucellose, babésiose, leucose bovine, et rhinotrachéite infectieuse des bovins. Des trousses pour les antigènes ont été préparées pour la fièvre aphteuse, la trypanosomiase et la septicémie hémorragique. Ces trousses servent à détecter des antigènes plutôt que les anticorps, et sont destinées au diagnostic final. Des trousses anticorps seront bientôt prêtes pour la fièvre catarrhale et la pleuropneumonie contagieuse bovine. Des trousses pour les maladies d'Aujeszky (porcs) et de Newcastle (volaille) seront étudiées prochainement.

En 1992, plus de 100 trousses (soit plus d'un demi-million de doses) ont été envoyées à quelque 75 laboratoires homologues dans le monde (*voir les cartes*).

Coopération internationale

Vu que des maladies infectieuses touchent le monde entier, la FAO, l'OMS et l'OIE collaborent à la normalisation internationale des méthodes et des réactifs ELISA à l'appui des programmes de prophylaxie et d'élimination de ces affections dans le monde.

En 1992, la section de la production animale des Laboratoires de l'AIEA est devenue officiellement le Centre FAO/AIEA pour les techniques ELISA et moléculaires de diagnostic des affections du bétail et le Centre de coopération avec l'OIE pour les méthodes immunoenzymatiques et moléculaires de diagnostic.

Cette décision garantira la normalisation internationale dans l'intérêt tant des pays industriels que des pays en développement.