

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à un projet de cahier des charges techniques de l'ACERSA
portant sur la mise en place d'une qualification BVD : « animal non IPI »
et au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 20 novembre 2001
portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant
à la certification officielle en matière de maladies animales**

RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 22 janvier 2010 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis relatif à un projet de cahier des charges techniques de l'ACERSA portant sur la mise en place d'une qualification BVD (Bovine Viral Diarrhoea, diarrhée virale bovine) : « animal non IPI (Infecté Permanent Immunotolérant) » et au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 20 novembre 2001 portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant à la certification officielle en matière de maladies animales.

CONTEXTE

Le contexte de cette demande d'avis est précisé par la DGAI dans le courrier d'accompagnement de la saisine : « *le projet de qualification vis-à-vis du BVD consiste en une garantie individuelle et non en une qualification de cheptel. L'objectif de cette qualification se limite donc à garantir à un acheteur, le statut non IPI d'un bovin (non Infecté Permanent Immunotolérant).* »

Cette qualification ne couvre pas tous les risques d'introduction du virus BVD dans une exploitation bovine. Ainsi elle n'offre pas de garantie vis-à-vis des risques associés à l'introduction du virus dans un cheptel par l'intermédiaire d'un animal atteint d'une infection aiguë ou d'une infection spermatique permanente.

Aussi, tel que l'avait souhaité l'Afssa dans divers avis relatifs à la qualification de cheptels, notamment en matière d'IBR, le niveau de garantie offert aux acquéreurs a été précisé dans le cahier des charges et évalué à un risque maximal d'erreur par excès de 1 pour 5000.

Différents protocoles de qualifications des animaux sont offerts par le cahier des charges. Pour les établir, l'ACERSA s'est appuyée d'une part sur des considérations scientifiques et d'autre part sur des données de terrain acquises depuis plusieurs années notamment en Bretagne s'agissant des bovins laitiers.

En ce qui concerne les aspects analytiques, le cahier des charges prévoit à ce stade la désignation par l'ACERSA d'un laboratoire référent pour la BVD (LR-BVD). Ce laboratoire se verrait confier par l'ACERSA les missions habituellement dévolues aux laboratoires nationaux de référence telles que prévues aux articles R 202-2 à R 202-7 du Code rural, deux laboratoires apparaissant actuellement susceptibles de se porter candidat en tant que laboratoire référent (laboratoire Afssa Sophia-Antipolis et LVD 35).

Ces modifications seront suivies d'une modification de l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001 portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant à la certification officielle en matière de maladies animales. »

METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Santé animale » réuni les 15 septembre 2010 et 13 octobre 2010.

Elle s'est appuyée sur les documents suivants :

- le référentiel technique de garantie d'un animal non IPI de la FNGDSB Version C du 15/06/2005 (consultation le 10 août 2010 du site <http://www.gds38.asso.fr/>) ;
- le cahier des charges techniques de gestion des critères 5, 6, 7 et 8 du référentiel technique de garantie non IPI de la FNGDSB (consultation du 10 août 2010 du site <http://www.gds38.asso.fr/>) ;
- le cahier des charges ACERSA CC BVD 01 Version A ;
- le PR BVD 02 Version A, ACERSA ;
- la note ACERSA de présentation du cahier des charges relatif à la qualification « BVD bovin non IPI » ;
- le manuel qualité de l'ACERSA, version C, 28 juin 2007 ;
- l'arrêté du 20 novembre 2001 portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant à la certification officielle en matière de maladies animales.

ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

1. « Analyse de la modification proposée de l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001 »

L'arrêté ministériel (AM) du 20 novembre 2001 portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant à la certification officielle en matière de maladies animales définit notamment dans son article 2 les missions de cette association. Elle est « habilitée à engager toute action utile concourant à la qualification du statut sanitaire des cheptels pour les maladies dont la liste figure en annexe ». Il est proposé de modifier cette liste de maladies et d'y ajouter la BVD.

Si l'on se réfère à ce qui est décrit dans le cahier des charges (CC BVD 01), la garantie qu'il est envisagé d'apporter est celle de « bovin non IPI ». Les précédentes qualifications mises en place par l'ACERSA avaient pour objectif de définir une qualification de cheptel, les certifications délivrées par l'ACERSA reposaient sur les résultats d'analyses de cheptels (IBR [rhinotrachéite infectieuse bovine], visna maedi, hypodermose), ce qui permettait de compenser une sensibilité individuelle parfois moyenne de la méthode d'analyse utilisée. Il s'agit, dans le cas présent, d'une certification attribuée à un bovin et reposant sur les résultats d'une analyse individuelle ou de troupeau (cf. chapitre 5 du CC BVD 01). Cette notion peut avoir son importance selon le niveau de performance des outils de laboratoire employés. Il est donc plus que nécessaire d'avoir une idée précise des qualités intrinsèques des tests employés et des conditions précises de leur emploi.

La formulation de l'article 2 de l'AM du 20 novembre 2010 devrait donc être revue en modifiant non seulement la liste des maladies concernées, mais également en intégrant la notion de délivrance du statut sanitaire d'un animal.

2. Etude du cahier des charges CC BVD 01

2.1. Analyse des chapitres portant sur la gestion administrative de la certification (chapitres 1 à 4, 8 et 9 du CC BVD 01)

2.1.1. Intérêt de la démarche

A l'heure actuelle, un nombre relativement important d'analyses BVD sont réalisées en France dans le cadre d'opérations de diagnostic, de plans de lutte mis en œuvre dans des cheptels reconnus infectés, de transactions commerciales, de participations à des concours ou expositions, ou encore d'actions de surveillance de troupeaux. Au cours de leur vie, les bovins peuvent ainsi faire l'objet de plusieurs analyses susceptibles d'établir leur statut infectieux vis-à-vis du virus BVD, qu'il s'agisse d'une infection transitoire ou persistante. Il faut noter que le statut IPI est acquis avant la naissance et il est définitif pour toute la vie de l'animal.

Cette information est d'autant plus intéressante que la durée de vie des bovins IPI est habituellement assez courte dans la mesure où ils déclenchent, généralement avant l'âge de 15 à 18 mois, une maladie des muqueuses (BVD aiguë) mortelle. Quelques bovins parviennent à l'âge adulte et sont des animaux qui pérennisent la circulation virale en étant soit des femelles donnant naissance systématiquement à des IPI, soit des mâles excréteurs spermatiques de virus capables d'infecter les femelles saillies ou inséminées. Certains groupements de défense sanitaire (GDS) délivrent une garantie d'animal non IPI en suivant les recommandations du référentiel technique de GDS France. Cette garantie est mentionnée sur le passeport de l'animal par l'apposition d'une étiquette autocollante.

Ainsi, il est aisé de comprendre l'intérêt économique de la garantie proposée au travers de la constitution d'un fichier d'animaux garantis (FAG) non infectés permanents (ou persistants) immunotolérants (« non IPI »). Elle permet d'éviter de refaire l'analyse, et de réduire ainsi les frais pour l'éleveur. Il faut toutefois souligner que le coût du dépistage de la BVD a fortement baissé depuis que la méthode RT-PCR sur mélanges est disponible.

Indépendamment de l'aspect purement financier, il est certain que cette démarche n'est pas suffisante pour assurer la sécurisation des échanges. Le chapitre 1 du CC BVD 01 indique d'ailleurs que la qualification bovin non IPI ne couvre pas les risques associés à l'introduction du virus BVD dans un cheptel par l'intermédiaire d'un animal atteint d'une infection aiguë ou d'une infection spermatique. En effet, si l'introduction dans un cheptel d'un animal IPI constitue un risque majeur sur le plan épidémiologique, celle d'un individu en virémie transitoire peut ne pas être dénuée de conséquence. La présence, dans le troupeau d'accueil, de femelles entre le 40^{ème} et le 125^{ème} jour de gestation, mises au contact d'un bovin « virémique transitoire », entraînera la naissance d'un certain nombre d'IPI (risque différé). Avec cette nouvelle certification supplémentaire, les consignes de biosécurité à l'introduction risquent d'être moins respectées, comme cela a déjà été constaté pour d'autres garanties, d'autant que toutes ces garanties permettent, de plus en plus, de surseoir aux contrôles à l'introduction. En matière de BVD, la certification « bovin non IPI » ne dispense en aucun cas de l'observation d'une quarantaine d'une durée de 12 à 15 jours, délai généralement considéré comme suffisant pour qu'un individu en infection aiguë de BVD ne soit plus excréteur. Une publication récente (Collins et al., 2009) a démontré qu'après une primo infection, il était possible de détecter le virus dans le sang (cellules de la lignée blanche) 98 jours après infection et qu'il était possible de transmettre ce virus par transfusion sanguine à des animaux naïfs. Toutefois, il n'y a aucun élément permettant de conclure qu'une transmission naturelle puisse se réaliser sur une aussi longue période, même si cette hypothèse pourrait permettre de comprendre la persistance de la circulation virale dans des cheptels longtemps après élimination du dernier IPI.

Il est également peu probable que cette garantie puisse être économiquement valorisée par le vendeur. Tout au plus, comme on le constate pour d'autres affections, cette garantie peut progressivement être exigée sans contrepartie par les opérateurs commerciaux, faute de pouvoir trouver des acquéreurs pour les bovins sans garantie, ou pour éviter d'avoir à reprendre un animal qui se serait révélé virémique. Ainsi, il n'est pas impossible de constater progressivement la systématisation de cette démarche de qualification bovin non IPI. Il n'est pas certain que tous les organismes à vocation sanitaire (OVS) composant les Schémas

Territoriaux de Certification (STC) soient en mesure d'assurer cette éventuelle évolution vers une prophylaxie collective.

Enfin, on peut souligner que cette garantie n'a que peu d'intérêt pour la filière de sélection, les mâles reproducteurs devant faire l'objet d'investigations sur le sperme, même et surtout s'ils sont séropositifs, en raison d'une potentielle infection testiculaire persistante après une infection aiguë.

En résumé, si l'on comprend sans difficulté l'intérêt de valoriser une information sanitaire disponible et d'éviter aux éleveurs des analyses redondantes occasionnant des dépenses inutiles, il est nécessaire d'attirer l'attention de ceux-ci sur les limites de la garantie proposée et de rappeler que cette garantie ne dispense en aucun cas de l'application de mesures classiques de biosécurité ainsi que du contrôle du veau à la naissance à la suite de l'introduction d'une femelle gravide.

2.1.2. Pertinence du cadre de gestion et de la terminologie employée (chapitres 1 et 3 du CC BVD 01)

La garantie proposée est délivrée par un STC constitué par différents organismes à vocation sanitaire, à vocation technique et un ou plusieurs laboratoires accrédités. Ce STC a pour mission l'application du cahier des charges. Ce principe de fonctionnement est le même que celui adopté pour l'IBR ou l'hypodermose et a démontré son efficacité. Deux remarques peuvent toutefois être formulées sur ce point, ainsi que sur les termes employés pour désigner la garantie apportée :

- dans tout le texte, la garantie « bovin non IPI » est désignée sous le terme de « qualification », ce qui semble un peu inapproprié bien que conforme à la définition figurant dans le manuel qualité de l'ACERSA (MQSANC01 – chapitre 1 – définitions et sigles). Le terme de « qualification » est en principe réservé aux maladies gérées par l'Etat (leucose, tuberculose, brucellose,...). Pour les autres maladies, il est plutôt convenu d'utiliser les termes d'« appellation » (cf. art. 3 de l'AM du 20 novembre 2001) voire de « certification » ou de « garantie ». D'ailleurs dans la PR BVD 02 point 5, il est fait référence à la gestion et à l'édition des « appellations » alors que, dans le reste du texte, il est fait mention de « qualifications » ;
- au sujet de la constitution du STC, il est clairement mentionné que les seuls OVS habilités à faire partie du STC sont les GDS. Or, si l'on se réfère au manuel qualité de l'ACERSA, il est indiqué que le STC est formé, entre autres, d'un ou plusieurs OVS, sans précision sur leur nature. La rédaction du chapitre 3 du CC BVD-01 devrait être moins limitative à ce sujet et plus en concordance avec le système qualité de l'ACERSA. La formulation utilisée dans le cahier des charges hypodermose semble plus conforme à l'esprit du manuel qualité de l'ACERSA (§ 2 CC/VAR/01 B).

2.1.3. Pertinence des définitions (chapitre 2 du CC BVD 01)

La définition donnée de l'IPI est partiellement inexacte. Un tel animal est, en effet, capable de développer une réponse immunitaire humorale dirigée contre le virus ou du moins vis-à-vis de certains épitopes (exemple : gp53). La définition retenue n'est correcte que si elle est restreinte à la réaction immunitaire humorale vis-à-vis des épitopes communs à toutes les souches virales, comme la NS-3 (p80). C'est en particulier pour cette raison que les tests de recherche d'anticorps totaux sont inappropriés pour le protocole de dépistage des IPI reposant sur une antigénémie effectuée uniquement sur les animaux séronégatifs. Il serait préférable de définir, sur le plan immunitaire, l'IPI comme un bovin ne développant pas de réponse immunitaire susceptible d'éliminer le BVDV qu'il héberge, et vis-à-vis duquel il est donc tolérant. Enfin, d'un point de vue rédactionnel, la définition du virus devrait logiquement être placée avant celle de l'IPI.

2.1.4. Etude de l'étendue et des limites de la certification (chapitre 4 du CC BVD 01)

Ce paragraphe soulève quelques interrogations, tant sur le plan des « considérants » que sur le plan du choix du risque maximal acceptable. La rédaction laisse à penser que le calcul du

risque d'erreur par excès repose sur des données consolidées, à savoir la prévalence moyenne des animaux d'une part, et la fiabilité (VPN [valeur prédictive négative] et VPP [valeur prédictive positive]) des techniques de dépistage, d'autre part. Si la plupart des scientifiques s'accordent sur une prévalence moyenne d'IPI de 1%, les valeurs de sensibilité des différentes méthodes de diagnostic/dépistage sont moins bien cernées et peuvent être relativement variables selon la technique considérée. Ce point est d'autant plus complexe que la sensibilité d'une même technique peut également dépendre de l'âge de l'animal soumis au test, de la matrice d'analyse utilisée ou du délai entre la collecte de l'échantillon et la réalisation de l'analyse. Ainsi, un test ELISA Ag p80 est contre-indiqué sur les animaux sous couverture colostrale, alors qu'il n'en est pas de même pour une RT-PCR ou, dans une moindre mesure, pour un test ELISA Ag E0. Chez un très jeune animal, l'ELISA Ag E0 présente une bien meilleure sensibilité quand il est réalisé sur une biopsie cutanée plutôt que sur du sérum. Ces deux exemples traduisent la complexité de la détermination de la sensibilité des tests de dépistage. De plus, celle-ci est, la plupart du temps, calculée de manière relative par rapport à la culture cellulaire. Pourtant, plusieurs travaux ont montré que la culture cellulaire était moins performante que l'ELISA E0 ou la RT-PCR sur des animaux sous couverture colostrale. Les chiffres de sensibilité et de spécificité communiqués par les fournisseurs de coffrets sont donc à considérer avec une certaine prudence, dans la mesure où ils ont été souvent établis dans un contexte donné, et où ils ne sont pas nécessairement transposables à toutes les catégories d'animaux susceptibles d'être garantis, ni à toutes les matrices utilisables.

Indépendamment de la justesse du calcul de la valeur numérique de l'évaluation du risque (0,02% des animaux garantis par excès), il convient de s'interroger sur le niveau d'acceptabilité de ce risque (1 bovin sur 5000). En effet, l'introduction d'un animal faussement déclaré non infecté est le plus souvent à l'origine de pertes économiques particulièrement élevées (expressions cliniques multiples), et ce même pour des élevages de valeur génétique moyenne. Il suffit, pour s'en convaincre, de consulter les dossiers traités par les caisses « coup dur » des GDS. Certes, ces situations ne sont pas toujours liées à l'introduction d'un bovin IPI, mais elles attestent de la nécessité de limiter, autant que faire se peut, les risques liés à une garantie délivrée par erreur. Ce point souligne, encore une fois, l'importance d'une connaissance précise des performances des tests de dépistage, ce qui, à ce jour, n'est pas possible en l'absence de matériel de référence et de laboratoire de référence.

2.1.5. Analyse des modalités de gestion des anomalies (chapitre 7 du CC BVD 01)

Il paraît légitime de prévoir une telle procédure, pour s'assurer que le risque d'erreur par excès ne dépasse pas le seuil défini comme acceptable et mieux cerner les circonstances d'attribution par erreur de l'appellation. La démarche repose sur la réalisation d'une analyse complémentaire de confirmation ou d'infirmité, dès lors qu'un animal disposant de la garantie se trouverait suspect d'être un IPI, soit sur la base d'éléments cliniques ou épidémiologiques, soit à la suite d'un résultat positif à une recherche virologique. Le délai indiqué dans la version A de la PR BVD 02 pour réaliser cette analyse de contrôle est de trois à quatre semaines, ce qui correspond généralement au temps nécessaire à la négativation des tests dans le cas d'une virémie transitoire. Quelques publications (Fulton et al., 2009) font état de persistance de la positivité des tests virologiques au-delà de ce délai (jusqu'à cinq à six semaines pour un ELISA Ag p80), mais le risque d'erreurs par excès est faible et les conséquences limitées (légère majoration du nombre d'anomalies). Ce délai est donc justifié lorsqu'il fait suite à une recherche virologique positive ; par contre il n'apparaît pas cohérent d'attendre trois à quatre semaines lors d'une suspicion fondée sur des éléments cliniques ou épidémiologiques : dans cette situation, une première analyse de contrôle devrait être réalisée dans les meilleurs délais, et être éventuellement suivie d'analyses de confirmation.

Une première évaluation du pourcentage d'anomalies a été faite à partir des données collectées en Bretagne (Joly, Vermesse, Maurin et Roger, communication personnelle). Le document fourni fait état de premiers résultats considérés comme encourageants et traduisant un taux d'anomalie largement inférieur (7,6 sur 1 000 000) au risque maximal d'erreurs par excès fixé dans le point 4 du CC BVD 01. Ce calcul est toutefois effectué :

- sur la base de certaines analyses ne figurant pas sur la liste des tests autorisés par le cahier des charges (par exemple, bovin « négatif » dans un lot sondé séronégatif) ;
- avec des tests pour lesquels un contrôle des critères d'utilisation des techniques ne semble pas avoir été effectué, en s'assurant qu'elles correspondent pleinement à ce qui est exigé dans les tableaux 1 et 2 du CC BVD 01 (cohérence entre les techniques analytiques et les matrices utilisées, et ce en fonction de l'âge) ;
- avec un dénominateur qui correspond au nombre total d'animaux inscrits au FAG, ce qui ne peut être considéré comme équivalent au nombre de bovins ayant fait l'objet d'un recontrôle de leur statut pour des raisons diverses. En effet, le maintien de cette garantie individuelle ne nécessite pas systématiquement, contrairement à la certification IBR, la réalisation de nouveaux contrôles à périodicité régulière. Cette modalité d'évaluation ne donne qu'une idée très imparfaite du pourcentage des anomalies en le sous-estimant à un niveau qu'il n'est pas possible d'évaluer.

En outre, il est évoqué dans ce document que près de 70 % des bovins présentent au moins deux critères garantissants, ce qui signifie qu'ils sont en fait, au regard des exigences du cahier des charges, comptabilisés deux fois. Les auteurs indiquent également que les anomalies confirmées sont surtout observées sur des animaux n'ayant qu'un critère garantissant. Cette constatation n'est pas très rassurante dans la mesure où la garantie BVD bovin non IPI pourra être délivrée par l'ACERSA sur la base d'un seul critère. Il serait souhaitable qu'une étude plus approfondie de ce point soit diligentée, avant la mise en place de la certification.

Enfin, il est légitime de s'interroger sur la probabilité, à l'avenir, de mettre en évidence ces anomalies. Face à un problème de BVD dans un cheptel, il y a en effet de fortes chances que le vétérinaire soit plus enclin à évoquer une contamination extérieure (voisinage, faune sauvage,...) qu'à remettre en question la garantie « BVD : bovin non IPI » d'un animal récemment introduit. La découverte de ces anomalies sera plus probablement fortuite. Dans le cas d'un bovin garanti à tort et développant une maladie des muqueuses, il est probable qu'aucune confirmation ne pourra être apportée en raison de la mort de l'animal. Le cahier des charges ne précise pas si l'animal doit être considéré comme IPI en cas d'impossibilité de réalisation de l'analyse de confirmation. Il serait souhaitable que l'enquête prévue en cas de retrait de qualification (cf. dernière phrase du point 7) soit également réalisée dans le cas où il n'a pas été possible de définir le statut réel de l'animal suspect.

2.1.6. Etude des points particuliers (chapitre 8 du CC BVD 01)

Ce paragraphe est particulièrement important, car il prévoit la possibilité d'une reprise des historiques. En d'autres termes, il s'agit d'attribuer la garantie ACERSA « BVD : bovin non IPI » si l'animal était déjà antérieurement garanti non IPI. Mais pour cela, il faut que les conditions d'obtention de l'ancienne garantie soient conformes aux critères du présent cahier des charges. Plusieurs remarques peuvent être formulées sur ce point :

- les éleveurs des départements pour lesquels les résultats d'analyse BVD ne font pas l'objet d'un enregistrement sur SIGAL seront pénalisés car il sera matériellement difficile de retrouver toutes ces informations ;
- la vérification de la conformité par rapport au cahier des charges risque d'être particulièrement laborieuse, voire délicate, car elle nécessitera a minima le contrôle de l'adéquation test – matrice – âge de l'animal, données qui ne seront probablement pas souvent complètes ;
- les conditions d'emploi des tests ne sont pas standardisées, parfois même inappropriées : il suffit pour cela de se référer à la taille des mélanges, pour la recherche virologique par PCR, préconisée par les fabricants, ou au résultat de l'EIL BVD Ag sur sérum (voir le paragraphe 2.2.1.2) ;

- quelle sera la valeur attribuée à des résultats d'analyses réalisées par un laboratoire non accrédité et n'ayant pas participé à des essais inter-laboratoires, et comment cette information sera-t-elle collectée a posteriori ?

Dans ces conditions, il apparaît difficilement envisageable de faire une reprise des historiques d'autant que, par définition, aucune des techniques utilisées n'aura fait l'objet de validation de la part du LR-BVD, ce dernier n'ayant pas été à ce jour désigné.

Ce point 8 prévoit ensuite le maintien de la qualification « sous réserve du respect des dispositions du cahier des charges, quel que soit le détenteur de l'animal ». Or ce CC BVD 01 ne prévoit aucune obligation pour le détenteur d'un animal qualifié non IPI. Il apparaît pourtant nécessaire que des éleveurs souhaitant qu'un (ou plusieurs) bovin(s) de leur cheptel bénéficie(nt) de la qualification bovin non IPI s'engagent à respecter différents points : déclaration de toute suspicion clinique sur un bovin bénéficiant de cette qualification, envoi de tous les prélèvements destinés au diagnostic de BVD obligatoirement vers le(s) laboratoire(s) d'analyses habilité(s) par le STC.

2.2. Etude des différents chapitres portant sur la gestion technique de la certification (chapitres 5 à 8 du CC BVD 01)

2.2.1. Cadre de réalisation des analyses (chapitre 5 du CC BVD 01)

2.2.1.1. Remarques sur l'aspect « laboratoires » (§ 5.1)

Il est prévu, d'une part, un laboratoire référent remplissant les missions décrites dans la réglementation relative aux laboratoires de référence et, d'autre part, des laboratoires effectuant les analyses de routine. L'un comme les autres doivent répondre à un certain nombre d'exigences.

Les missions d'un laboratoire de référence sont définies dans les articles R 202-2 à R 202-7 du Code rural. Dès lors qu'il remplit ces missions, on peut s'interroger sur les raisons de sa dénomination de laboratoire « référent » et non « de référence ».

Quant aux laboratoires réalisant les analyses de routine, ils doivent être accrédités selon la norme EN NF ISO/CEI 17025 pour les analyses BVD (tests d'amplification génomique, isolement sur culture cellulaire, tests immuno-enzymatiques pour la recherche d'anticorps ou d'antigènes ou séroneutralisation). A défaut, ils doivent répondre à un certain nombre d'obligations sur le plan de la traçabilité des analyses et de la participation aux essais inter-laboratoires (EIL). Ces dispositions sont identiques à celles exigées pour les autres maladies faisant l'objet d'une certification (IBR, hypodermose, ...). On peut toutefois faire deux remarques traduisant le caractère prématuré de la démarche.

- A ce jour, le LR-BVD n'a pas été désigné. Il n'appartient pas au CES SA de se prononcer sur les candidats en lice. Une certaine confusion règne actuellement, puisque deux laboratoires organisent, de manière non concertée, des EIL. Il est bien difficile pour les structures intéressées de faire un choix entre ces différents EIL. En outre, l'absence de laboratoire de référence n'est pas sans conséquence, en particulier en ce qui concerne la première mission de ce type de laboratoire, c'est-à-dire le développement, l'optimisation et la validation de méthodes d'analyse (cf. paragraphe 2.2.1.2).
- Il est fait référence à une accréditation dans le domaine de la biologie moléculaire. Cette accréditation n'est actuellement possible qu'hors programme, car aucun programme sur les méthodes de biologie moléculaire n'existe dans le domaine de la santé animale au COFRAC, la norme AFNOR « Guide de bonnes pratiques pour la mise en œuvre de la PCR en biologie moléculaire » n'étant pas encore terminée (projet NF U 47 600), et actuellement en cours d'enquête probatoire. On peut dès lors s'interroger, dans ce cadre de certification, sur la valeur des tests d'amplification génomique dans la mesure où il n'existe aucune référence permettant d'auditer les laboratoires qui les pratiquent. Le CC stipule que les analyses devront être réalisées à « l'aide de réactifs du commerce, contrôlés et autorisés par le LR-BVD ». La norme NF U 47 600 en cours de finalisation prévoit quant à elle la possibilité de

développement et de validation de méthodes internes ; cette particularité devrait être prise en compte dans le cahier des charges, soit en exigeant l'accréditation des laboratoires développant des techniques internes et le contrôle de la sensibilité et de la capacité de ces réactifs à détecter l'ensemble des souches circulantes, soit en refusant l'utilisation de tout réactif n'ayant pas été validé directement par le LR.

D'une façon plus générale il est proposé de laisser la possibilité aux laboratoires non accrédités de réaliser les analyses nécessaires dans le cadre de cette certification. Comme pour l'agrément et la reconnaissance, il serait judicieux d'exiger l'accréditation pour les techniques dans un délai de 18 mois à compter de l'appel à candidature ou de la parution du programme concerné.

La durée d'archivage des résultats et des documents permettant d'assurer la traçabilité des analyses a été fixée à trois ans. Même si l'espérance de vie d'un IPI est le plus souvent inférieure à cette durée, quelques bovins IPI peuvent vivre plus longtemps. Il serait donc justifié de prolonger cette durée d'archivage à au moins cinq années, ce qui permettrait également d'être en conformité avec le décret 2009-1124 relatif aux archives publiques.

2.2.1.2. Remarques sur l'aspect « analyses » (§ 5.2)

Dans ce paragraphe sont détaillées les différentes méthodes directes et indirectes, utilisables dans le cadre de la certification. Il est indiqué, à ce niveau, que les tests doivent être contrôlés et autorisés par le LR-BVD. Celui-ci n'ayant pas été désigné à ce jour, les données sur les performances des différents coffrets présents sur le marché français ne sont pas disponibles. Même si des travaux ont été effectués par certaines structures et que des EIL ont été organisés, il n'y a pas eu d'évaluation proprement dite des tests commercialisés en France. Or ceux-ci sont nombreux, notamment en immunosérologie et pour la détection immuno-enzymatique d'antigènes viraux (cf. tableaux 1 et 2 en annexe). Une rapide comparaison des notices de ces tests permet de noter un certain nombre de différences qui portent par exemple sur :

- les analytes ciblés (Ag p80 ou Ag E0 et anticorps anti p80 ou totaux) ;
- les matrices d'analyse utilisables ;
- la possibilité de procéder à des analyses de mélange ainsi que la taille préconisée pour ces mélanges ;
- la présence ou l'absence de précisions concernant les génotypes et sous-génotypes susceptibles d'être détectés.

Il est donc indispensable qu'une évaluation des performances des différents coffrets commerciaux soit effectuée sur la base d'étalons, et qu'un agrément des trousseaux de diagnostic soit mis en place. Même si certains fournisseurs mettent à disposition des dossiers de validation, celle-ci doit être menée de façon indépendante et comparative. L'agrément doit porter sur le couple analyte – matrice. De fait, les analyses qui sont pratiquées actuellement ne sont pas équivalentes et cette situation est difficilement acceptable dans le cadre d'une certification nationale. Toutefois, un certain nombre d'EIL ont été menés ces dernières années par le LDA 35, ainsi que par le laboratoire de l'Anses de Sophia Antipolis, mais ils n'ont pas porté sur toutes les méthodes (uniquement la recherche d'anticorps sur sérum ou lait et l'antigénémie sur sérum et sur leucocytes). Bien que ces essais n'aient pas comme objectif de comparer les coffrets utilisés par les laboratoires, l'examen des résultats de ces EIL permet déjà de faire quelques observations. Ont ainsi été constatés :

- en sérologie (BVD Ac anti p80) : des différences de niveau de détectabilité (EIL 2008 Anses) ou des phénomènes de zone (un sérum donnant un résultat négatif en pur, positif au 1/10 et négatif au 1/100 avec l'un des coffrets utilisés) (EIL LVD 35 2008) ;
- en recherche d'anticorps sur le lait : des erreurs par excès, essentiellement liées à des laits non écrémés avant analyse, des problèmes de répétabilité (coefficient de variation CV \approx 10 %) ; ainsi, sur 17 laboratoires, trois ont obtenu des résultats non satisfaisants en répétabilité ; ce critère évalué par rapport à un seuil (CV=15%) fixé

par le laboratoire organisateur paraît difficile à atteindre avec certains coffrets (EIL lait 2009 LVD 35), et des données, en termes de sensibilité et de spécificité, ne sont pas vérifiées sur le lait de tank ;

- en recherche d'antigène : une répétabilité correcte sur sérum, mais très moyenne sur leucocytes (CV ≈ 15%) et un défaut de sensibilité pour l'un des coffrets employés, quel que soit le laboratoire utilisateur, lorsque l'analyse est réalisée sur sérum ;
- en RT-PCR, des tests présents sur le marché français reposant tous (cf. tableau 3 en annexe) sur l'amplification d'une séquence en 5' UTR, mais avec des modalités d'extraction et des matrices d'analyse différentes et aucun EIL à ce jour mené en France (programmé par le LDA 35 pour septembre 2010).

Ces quelques données confirment la nécessité de la désignation rapide d'un laboratoire de référence chargé, entre autres, de l'évaluation des coffrets et de la définition des conditions optimales de leur utilisation (matrices d'analyse, taille des échantillons de mélange,...). Il conviendra également de s'assurer que les tests RT-PCR disponibles pourront permettre de détecter tous les génotypes et sous-génotypes, ou du moins ceux qui sont prédominants dans notre pays (BVDV1b et BVDV1e). Il serait tentant, avec la RT-PCR temps réel, de vouloir faire la distinction entre une virémie permanente (Ct faible) et une virémie transitoire (Ct moyen à élevé), ce que d'ailleurs, l'un des fournisseurs propose dans sa notice. Il convient cependant d'être prudent sur ce point, car rien ne permet d'affirmer que le niveau de virémie ne peut pas être variable selon le génotype, le sous-génotype ou même la souche virale en cause. Il est possible également que la virémie chez un IPI connaisse des fluctuations au point de voisiner le pic de virémie observable chez un animal en infection aiguë. Une observation récente a permis de constater que la modification d'une seule paire de bases s'était traduite par une diminution du rendement de la RT-PCR conduisant à une augmentation du Ct de 24 à 37, ce qui prouve le degré relatif de la quantification, surtout pour le virus BVD qui, comme tout virus à ARN, est sujet à des mutations fréquentes (Jackova et al., 2008 ; Le Dréan et al., 2010). Cette variabilité du virus BVD impacte également les autres techniques de diagnostic utilisables. Ainsi, les résultats obtenus en séroneutralisation dépendent de l'homologie entre la souche utilisée et la souche sauvage. Pour les ELISA antigène, la technique basée sur la reconnaissance de la protéine E0 est de plus en plus fréquemment utilisée, or la partie du génome codant cette glycoprotéine est connue pour sa variabilité.

2.2.2. Conditions d'attribution d'une qualification « BVD : bovin non IPI » (chapitre 6 du CC BVD 01)

Ce chapitre aborde de manière plus précise les critères auxquels les animaux doivent répondre pour pouvoir prétendre à la certification. Celle-ci peut être obtenue à partir du contrôle du bovin, par l'ascendance, la descendance ou enfin, par contrôle du cheptel d'appartenance, cette dernière modalité ne pouvant être retenue que pour les ateliers laitiers.

2.2.2.1. Etude des modalités d'obtention de la certification à partir du contrôle du bovin (sous chapitre 6.1.1 du CC BVD 01)

Dans ce cas, il convient de distinguer les animaux de moins de 6 mois et ceux de 6 mois et plus. Cette distinction est nécessaire en raison des interférences occasionnées par la présence des anticorps d'origine colostrale, qui sont susceptibles de donner lieu, sur un bovin IPI :

- à des résultats négatifs dans le cas de la détection antigénique,
- ou à des résultats positifs pour la recherche des anticorps,

Ceci peut aboutir, dans les deux cas, à l'attribution par erreur de la qualification de bovin non IPI.

Plusieurs remarques peuvent être faites :

i) sur le statut délivré sur la base des analyses sérologiques (tableau 1 du point 6.1.1 du CC BVD 01).

- La séropositivité (Ac anti p80) est en principe un gage du statut non IPI de l'animal de plus de 6 mois puisque, par définition, l'individu immunotolérant est incapable de fabriquer des anticorps vis-à-vis de certains épitopes de la p80, protéine non structurale considérée comme présente chez toutes les souches de BVDV (en l'état actuel des connaissances). Toutefois, il a été constaté (Vialard, observations personnelles) que des animaux IPI en phase terminale de maladie des muqueuses pouvaient présenter une séropositivité en anticorps anti p80 pour des raisons qui ne sont pas encore cernées. Dans la mesure où l'information du contexte dans lequel est obtenu le résultat positif en sérologie n'est pas forcément accessible, en particulier sur les enregistrements dans la base de données SIGAL, cet animal sera classé non IPI (toutefois l'impact de ce cas a peu d'importance dans la mesure où ce type de bovin va succomber dans un délai assez court), la mère pourra se voir également attribuer la qualification bovin non IPI à partir de ce résultat (l'impact dans ce cas n'est pas forcément négligeable).
- Plusieurs cas d'infection testiculaire persistante ont été décrits à la suite d'une primo-infection (Gard et al., 2007). Cette situation se caractérise par une excrétion de longue durée du BVDV dans le sperme, malgré l'existence d'une réaction sérologique forte, le BVDV étant en quelque sorte protégé du système immunitaire dans le testicule.

Ces situations peuvent être considérées comme ayant un niveau de risque acceptable compte tenu de leur très faible fréquence de survenue. Le cas de l'excrétion testiculaire persistante est d'ailleurs à juste titre exclu du domaine d'application de la garantie (cf. chapitre 1 du CC BVD 01).

ii) sur le statut délivré sur la base des analyses virologiques (tableau 1 du point 6.1.2 du C.C.).

Trois types de tests sont retenus dans ce cas : l'ELISA antigène (analyse individuelle sur sang ou sur tissu cutané), la RT-PCR (analyse individuelle ou de mélange sur sang, lait ou tissu cutané) et l'isolement viral sur culture cellulaire (en analyse individuelle sur sang total). Les remarques qui peuvent être formulées sur ces différentes modalités de définition du statut des animaux sont les suivantes :

- la nature de l'antigène recherché par les techniques immuno-enzymatiques est cruciale. Il n'est pas précisé s'il s'agit de l'antigène p80 ou de l'antigène E0. Or, il est parfaitement établi que la protéine p80, produite lors de la réplication virale dans la cellule, n'est présente qu'en faible quantité dans le sérum. Un fournisseur de coffret propose pourtant la recherche antigène p80 sur cette matrice et cette technique est employée par certains laboratoires, comme en témoignent les résultats de l'EIL effectué par le LVD 35 en 2008 : trois laboratoires sur les 42 participants ont utilisé cette technique sur la matrice sérum, ces trois laboratoires ont obtenu des résultats défavorables (faux négatifs)...On retrouve, dans l'EIL 2009, trois laboratoires ayant utilisé cette technique sur cette même matrice, avec les mêmes résultats défavorables. Cette situation illustre la nécessité impérative de la validation officielle, par un laboratoire de référence, des informations contenues dans les notices des fournisseurs de coffrets ;
- le statut de l'animal peut être établi par RT-PCR sur le lait de tank, mais il n'est pas précisé la manière dont est déterminée la liste exacte des animaux dont la production est présente dans le lait de tank le jour où le prélèvement a été effectué. Il convient de rappeler que la garantie BVD bovin non IPI est, par définition, délivrée à titre individuel, ce qui signifie, avec des méthodes de diagnostic RT-PCR, que chaque bovin devrait faire l'objet d'une analyse (individuelle ou en test de mélange) ;

- la variabilité du nombre de bovins présents dans les élevages laitiers peut être importante, ce qui souligne encore une fois la nécessité d'une validation préalable de la procédure par un LNR-BVD. Entre les deux fournisseurs actuels de tests PCR, tous basés sur la détection de la même séquence d'ARN viral, en l'occurrence la région 5' UTR, la taille du mélange « autorisé » varie de 60 à 400 vaches laitières. Les publications scientifiques ne permettent pas de mieux cerner l'aptitude de la RT-PCR à dépister un IPI dans un lait de tank, la taille du mélange pouvant varier de 192 bovins (Drew et al., 1999) à 600 bovins (Renshaw et al., 2000).

iii) Sur les analyses préconisées pour la détermination du statut d'un animal quel que soit l'âge (tableau 2 du point 6.1.2 du CC BVD 01)

Ce tableau est important car il fixe les critères de délivrance de la garantie, en particulier chez un animal de moins de 6 mois. La présence d'anticorps colostraux est en effet susceptible d'occasionner une interférence avec le dépistage virologique, en particulier lors d'emploi de techniques immuno-enzymatiques. Ce masquage de l'antigène viral est plus ou moins important selon la nature de l'antigène, la quantité d'anticorps présents dans la matrice analysée et le niveau de détectabilité de la méthode employée. En conséquence, pour les animaux de moins de 6 mois, la délivrance de la garantie est conditionnée à une virologie associée, ou non, avec la sérologie (Ac). Les préconisations présentes dans ce tableau 2 sont donc parfaitement justifiées, exception faite de la réalisation d'un ELISA Ag sur tissu cutané sans contrôle sérologique associé. En effet, le tissu cutané est relativement pauvre en Ag p80 d'une manière générale et, en particulier, chez les animaux sous couverture colostrale. Ce n'est pas le cas de l'Ag E0 (E^{ns}), qui peut être recherché dès les premiers jours de la vie. Toutefois, l'âge minimal indiqué pourrait être réduit à 4 mois même en cas d'emploi des tests immuno-enzymatiques (y compris l'ELISA p80) pour la recherche virologique ; en effet, chez un IPI les anticorps colostraux disparaissent plus rapidement que chez un animal non IPI et le « démasquage » de l'antigène est classiquement constaté vers l'âge de 3 ou 4 mois.

D'autre part, il est fait mention de la possibilité de recourir à des tests RT-PCR réalisés sur des mélanges de sang. Comme pour le lait, la taille des mélanges est variable selon le fournisseur du test et même en fonction de la matrice (cf. tableau 3 du présent avis). Il est donc indispensable que le LR – BVD se prononce également sur ce point, et ce avant la mise en place de la certification.

Enfin, il n'est pas rare de constater, dans un troupeau infecté par le BVDV, une séroconversion générale à l'exception d'un seul individu qui, par ailleurs, est négatif en virologie, quel que soit le test employé (y compris PCR sur leucocytes) et même si ces tests sont renouvelés à intervalles réguliers. Selon le tableau 2 du CC BVD 01, cet animal pourrait recevoir une garantie « BVD : bovin non IPI » alors que généralement cet animal est considéré comme suspect et éliminé.

2.2.2.2. Etude des modalités d'obtention de la certification à partir de l'ascendance ou de la descendance (sous chapitre 6.1.2 du CC BVD 01)

Il est reconnu qu'une mère IPI donne naissance obligatoirement à un animal lui-même IPI, ce qui inversement permet de considérer que la mère d'un bovin non IPI n'est pas IPI. La délivrance de la garantie par la descendance est donc parfaitement recevable. On peut toutefois s'interroger sur l'application de cette disposition à la mère receveuse dans le cas d'un transfert embryonnaire, et notamment sur les modalités d'acquisition par l'OVS de ce type d'information.

Au sujet de l'obtention de la garantie par l'ascendance, une réserve peut être émise. Il s'agit en effet de garantir tous les descendants d'une mère garantie bovin non IPI et ayant présenté un résultat individuel négatif à un test de détection des anticorps, nés avant ou au plus tard 3 mois après la date de ce prélèvement de sang. Cette modalité sous-entend qu'un animal devenu séropositif à la suite d'une infection par le BVDV le reste jusqu'à la fin de sa vie. D'une manière générale, la persistance d'anticorps détectables en matière de BVD est comprise entre deux et trois ans. Il est vrai que, la plupart du temps, les animaux

sont sujets à des réinfections régulières ayant pour conséquence « d'entretenir » leur séropositivité. Toutefois, certains troupeaux fonctionnent en circuit fermé, avec peu ou pas d'achats et des mesures renforcées de biosécurité. Dans ce cas, le cheptel peut se négativer après avoir connu un passage viral susceptible d'avoir généré des IPI. Il ne nous semble pas pertinent d'attribuer la garantie à tous les descendants d'un bovin sur la seule base d'une séronégativité obtenue antérieurement aux différents vêlages.

2.2.2.3. Etude des modalités d'obtention de la certification à partir du contrôle du cheptel d'appartenance (ateliers laitiers) (sous chapitre 6.1.3 du CC BVD 01)

La certification « BVD bovin non IPI » peut également être attribuée à partir du contrôle du cheptel d'appartenance, soit sur la base de deux RT-PCR négatives sur deux prélèvements de lait de tank à trois - six mois d'intervalle qui permettent d'attribuer la qualification bovin non IPI aux vaches ayant vêlé dans le troupeau au moins une fois à la date du second prélèvement, soit en démontrant l'absence de circulation virale par recherche d'anticorps sur le lait de tank (trois ou six analyses à quatre - huit mois d'intervalle selon le type de bovins auquel est octroyée la garantie).

A l'heure actuelle, dans un certain nombre de départements, une surveillance des cheptels laitiers a été mise en place, reposant essentiellement sur la réalisation régulière (en général tous les quatre mois) d'un test ELISA Ac sur le lait collecté. Le pourcentage d'inhibition constaté est converti en prévalence d'animaux séropositifs, un pourcentage d'inhibition inférieur à 35% correspondrait à une prévalence inférieure à 10%, un pourcentage compris entre 35% et 60% à une prévalence comprise entre 10% et 30%, et enfin un pourcentage d'inhibition supérieur à 60% à une prévalence supérieure à 30%. Le suivi et l'évolution de ces niveaux de prévalence sur trois contrôles permet de définir des statuts de cheptels et d'attribuer, sous certaines conditions variables (délai entre le début de la première lactation et la date du troisième lait de grand mélange (LGM), éventuellement rang de lactation), la qualification bovin non IPI aux vaches laitières présentes dans le cheptel voire, pour des résultats très favorables et persistants sur 6 contrôles, aux génisses de plus de 19 mois (Joly et al., 2001 ; Fourichon, Ezanno et Viet, communication personnelle). L'intérêt de garantir des bovins adultes comme non IPI n'apparaît pas très évident, la probabilité de trouver un animal de ce type au sein des vaches laitières ou même des génisses de plus de 19 mois étant très faible. En revanche, le nombre total d'animaux bénéficiant de la garantie s'en trouve nettement augmenté, ces individus représentant près de 60 % de l'effectif du FAG : 47% pour les vaches et 12% pour les génisses (Joly, Vermesse, Maurin et Roger, communication personnelle). Dans ces conditions, la probabilité que le risque d'erreur par excès soit supérieur à 1/5000 est pratiquement nulle.

Les modalités d'attribution de la certification prévues dans ce paragraphe 6.1.3 sont assez complexes, mais pas inacceptables sur le principe. On peut toutefois s'interroger sur les capacités de l'observance d'un tel protocole de suivi. Cette certification à partir d'analyses sur lait de mélange n'a été réalisée qu'avec un seul réactif, ce que ne spécifie pas le CC ; l'utilisation d'un autre réactif nécessiterait une validation préalable par un laboratoire de référence, il serait sans doute nécessaire également d'évaluer les conséquences de la variabilité inter-lots, ainsi que la reproductibilité de cette technique.

Il est également à noter que des possibilités d'attribution de cette qualification, à partir du contrôle du cheptel d'appartenance, prévues dans le référentiel technique de GDS France, ne sont pas reprises dans ce CC.

3. Conclusion

Considérant :

- que la délivrance d'une certification par l'ACERSA nécessite la maîtrise des principaux facteurs de risque pouvant entraîner une délivrance de cette certification par excès ;
- l'absence, à ce jour, d'un laboratoire de référence pour la BVD en France ;
- la diversité des outils de laboratoire disponibles pour le dépistage ou le diagnostic de l'infection par le BVDV ;
- les différences parfois importantes des performances de ces différents tests, aussi bien pour la recherche virologique que pour la détection des anticorps ;
- l'absence de données consolidées concernant la validation des procédures de mélange ;
- l'absence de contrôle officiel des réactifs disponibles actuellement sur le marché ;
- la présence actuelle sur certains documents sanitaires, sous la forme d'une étiquette autocollante délivrée par certains GDS, d'une indication « BVD : bovin non IPI » attribuée sur la base du référentiel technique BVD de GDS France ;
- que certaines des modalités de délivrance de la garantie d'un animal non IPI selon le cahier des charges associé au référentiel technique de GDS France ne sont pas reprises dans la démarche proposée par l'ACERSA ;
- qu'il n'y a pas urgence à la mise en place de cette certification officielle pour cette maladie et qu'il serait préférable que cette mise en place se fasse avec la même rigueur que pour les autres affections faisant l'objet d'une appellation ACERSA ;

le CES SA donne un avis défavorable à la proposition de cahier des charges BVD « animal non IPI », et recommande :

- que la mise en place de la certification officielle ACERSA soit différée le temps que soit désigné le LR-BVD et que ce dernier ait pu procéder à l'évaluation des coffrets commercialisés, à la validation des méthodes proposées dans le cahier des charges (CC BVD 01) et des procédures d'analyses de mélange actuellement proposées sur les réactifs disponibles, ainsi qu'à la mise à disposition d'étalons ;
- qu'en attendant, par analogie avec la démarche adoptée pour la paratuberculose, un référentiel technique ACERSA, reposant sur les mêmes bases que celles prévues dans le cahier des charges soumis à analyse, soit mis en place afin de permettre progressivement à tous les intervenants de se l'approprier, de l'appliquer et d'en tester la faisabilité ;
- que soit prévue une transformation de la garantie délivrée selon ce référentiel technique en appellation ACERSA dès que celle-ci sera effectivement opérationnelle avec un LR-BVD désigné ;
- que, dans l'ensemble du document cahier des charges, ainsi que dans la procédure PR BVD 02, le terme de « qualification » soit remplacé par le terme de « garantie » ou, mieux, d'« appellation » ou de « certification » ;
- que soient prévues dans ce cahier des charges les obligations devant être respectées par les éleveurs souhaitant qu'un (ou plusieurs) bovin(s) de leur cheptel bénéficie(nt) de la qualification bovin non IPI ;
- que soit approfondie la problématique des anomalies en ciblant la population dans laquelle le risque de garantir à tort a la plus forte probabilité de se produire (en l'occurrence les bovins de moins de 18-24 mois), et en ne retenant comme base de calcul de pourcentage que les individus qui ont effectivement fait l'objet d'un recontrôle. »

CONCLUSION

Tels sont les éléments d'analyse que l'Agence est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la DGAI concernant une demande d'avis relatif à un projet de cahier des charges techniques de l'ACERSA relatif à la mise en place d'une qualification BVD : « animal non IPI » et au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 20 novembre 2001 portant agrément de l'ACERSA en tant qu'organisme concourant à la certification officielle en matière de maladies animales.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

BVD, ACERSA, qualification

REFERENCES

- Collins ME, Heaney J, Thomas CJ, Brownlie J (2009) Infectivity of pestivirus following persistence of acute infection. *Vet Microbiol* 138, 289-296
- Drew TW, Yapp F, Paton DJ (1999) The detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk samples by the use of a single tube RT-PCR. *Vet Microbiol* 64, 145–154
- Fulton RW, Whitley EM, Johnson BJ, Ridpath JF, Kapil S, Burge LJ, Cook BJ, Confer AW (2009) Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in persistently infected cattle and BVDV subtypes in affected cattle in beef herds in south central United States. *Can J Vet Res* 73, 283-91
- Gard JA, Givens MD, Stringfellow DA (2007) Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) : epidemiologic concerns relative to semen and embryos. *Theriogenol* 68, 434-442
- Jackova A, Novackova M, Pelletier C, Audeval C, Gueneau E, Haffar A, Petit E, Rehby L, Vilcek S (2008) The extended genetic diversity of BVDV-1 : typing of BVDV isolates from France. *Vet Res Commun* 32, 7-11
- Joly A, Beaudeau F, Seegers H (2001) Evaluation de la prévalence et de la dynamique de l'infection BVD en Bretagne à l'aide d'un test ELISA sur lait de grand mélange. *Epidemiol et santé anim* 40, 7-14
- Le Dréan E, Pelletier C, Dalys S, Moine S, Chevalier G, Magnée D, Sellal E (2010) Génomique à grande échelle de souches de virus BVD circulant en France métropolitaine. *CR Congrès SNGTV de Lille*, 305-310
- Renshaw RW, Ray R, Dubovi EJ (2000) Comparison of virus isolation and reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk tank samples. *J Vet Diagn Invest* 12, 184-186

ANNEXE

Tableau 1 : Principales caractéristiques des coffrets disponibles en France pour la recherche des anticorps vis-à-vis de la BVD (informations extraites des notices des fournisseurs ou de dossiers de validation internes)

Nom commercial	Fournisseur ou distributeur en France	Type d'anticorps dépisté	Matrice	Remarques du fournisseur
Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 anticorps*	Pourquier	Anti p80	Sérums (I ou M) Plasmas (I) Lait (tank)	Sérums : Mélange jusqu'à 10 Lait : pas de taille maximale indiquée pour le lait de tank – analyse qualitative ou évaluation du taux de séropositivité du cheptel
SERELISA BVD p80 Ab monoblocking *	Synbiotics Corporation	Anti p80	Sérum (I) Plasma (I)	Mélange uniquement indiqué pour détection
Priocheck® BVD Ab **	AES Chemunex	Anti p80	Sérum (I) Plasma (I) Lait (tank)	Détection des anticorps si animal infecté par BVD1a, 1b et 2 Risque de faux positifs (faibles) sur produits frais Lait : pas de taille maximale indiquée pour le lait de tank – Analyse qualitative
Herdchek BVD Ab ***	IDEXX	Anticorps totaux	Sérum (I) Plasma (I) Lait de tank	Lait : pas de taille maximale indiquée pour le lait de tank – Analyse qualitative
LSIVET BVD/BD p80 blocking one step *	LSI	Anti p80	Sérum (I et M) Plasma (I et M)	Mélange jusqu'à 20
LSIVET BVD/BD p80 blocking one step serum / milk* (competition)*	LSI	Anti p80	Sérum (I et M) Sérum (I et M) Lait de tank	Sérums et plasmas : Mélange jusqu'à 20 Lait : pas de taille maximale indiquée pour le lait de tank– analyse qualitative ou évaluation du taux de séropositivité du cheptel

I = individuel
M = Mélange

* Site internet consulté début aout 2010

** Informations communiquées le 14/06/2010

*** informations communiquées par le fournisseur le 18/6/2010

Tableau 2 : Principales caractéristiques des coffrets disponibles en France pour la recherche du virus BVD par test immunoenzymatique
(informations extraites des notices des fournisseurs)

Nom du test commercial	Fournisseur ou distributeur en France	Nature de l'antigène détecté	Matrices recommandées par le fournisseur	Remarques complémentaires du fournisseur
SERELISA BVD p80 Ag monoindirect	Synbiotics Corporation	NS-3 (p80)	Sérum, plasma, sang total, extraits d'organes, leucocytes	Analyse préférentielle sur caillots ou leucocytes sur animal sous couverture colostrale (< 3 mois) et sur suspicion de MD (présence possible d'anticorps interférents) Délai de 3 à 4 semaines pour confirmation d'une suspicion d'IPI
Priocheck® BVD Ag	AES Chemunex	NS-3 (p80)	Leucocytes	Délai de 3 à 4 semaines pour confirmation d'une suspicion d'IPI
Priocheck® BVD Ag PI ^{focus}	AES Chemunex	NS-3 (p80)	Biopsie cutanée	Erreur par défaut possible sur animaux sous couverture colostrale Délai de 2 à 3 semaines pour confirmation d'une suspicion d'IPI par ELISA et de 6 semaines par PCR
LSIVET BVD/BD antigen capture skin L.O.	LSI	NS 2-3 (p80/125)	Leucocytes, organes lymphoïdes, biopsie cutanée	Analyse recommandée : - sur biopsie cutanée pour animal < 6 mois - sur leucocytes pour animal > 3 mois
Herdchek BVDV Ag/sérum plus	IDEXX	E0 = E ^{rns}	Sérum, plasma, sang total, biopsie cutanée	Réalisable sous couverture colostrale quel que soit l'âge sur biopsie cutanée Réalisable sur sérum sous couverture colostrale si animal de plus de 30 jours
Herdchek BVDV Ag/ leucocytes	IDEXX	NS-3 (p80)	Leucocytes, organes lymphatiques, écouvillons nasaux et cultures cellulaires	Meilleure sensibilité avec leucocytes Interférence avec Ac colostraux sur veaux de moins de 3 mois

MD = Mucosal Disease = maladie des muqueuses sensu stricto

Tableau 3 : Principales caractéristiques des coffrets RT PCR disponibles en France pour la détection du BVDV (informations extraites des notices des fournisseurs ou de dossiers de validation internes)

Nom commercial : type de test PCR	Fournisseur ou distributeur en France	Matrices	Indications concernant les mélanges	Autres informations
Adiavet ®BVD REALTIME ** (PCR temps réel - technologie Taqman sur région 5' non transcrite du génome virale)	AES Chemunex	Sang total (I ou M) Sérum (I ou M) Lait de tank Organes (I) Biopsie cutanée (I ou M)	Jusqu'à 50 pour sérums et sangs totaux Jusqu'à 60 bovins pour lait de tank Jusqu'à 20 pour biopsies cutanées	Test valide pour détection de pestivirus de type BVD 1a, b,c,d,e,f,g,h, BVD 2 a et c, peste porcine et border disease
TaqVet TM BVDV « screening » * (PCR temps réel - technologie Taqman sur région 5' non transcrite du génome virale)	LSI	Sérum, Plasma (I ou M) Sang total (I ou M) Surnageant de culture cellulaire Lait de tank Leucocytes (I) Organes lymphatiques (I)	Jusqu'à 400 bovins pour lait de tank Jusqu'à 20 pour sérum, plasma et sang total	Recommandation d'analyse sur sang total sur bovin laitier de moins de 6 mois Recommandation d'analyse sur sang total sur bovin allaitant de moins de 8 mois Ct > 35 : conclusion de virémie transitoire

I = individuel
M = Mélange

* Site internet consulté début aout 2010

** Informations communiquées le 18/06/2010