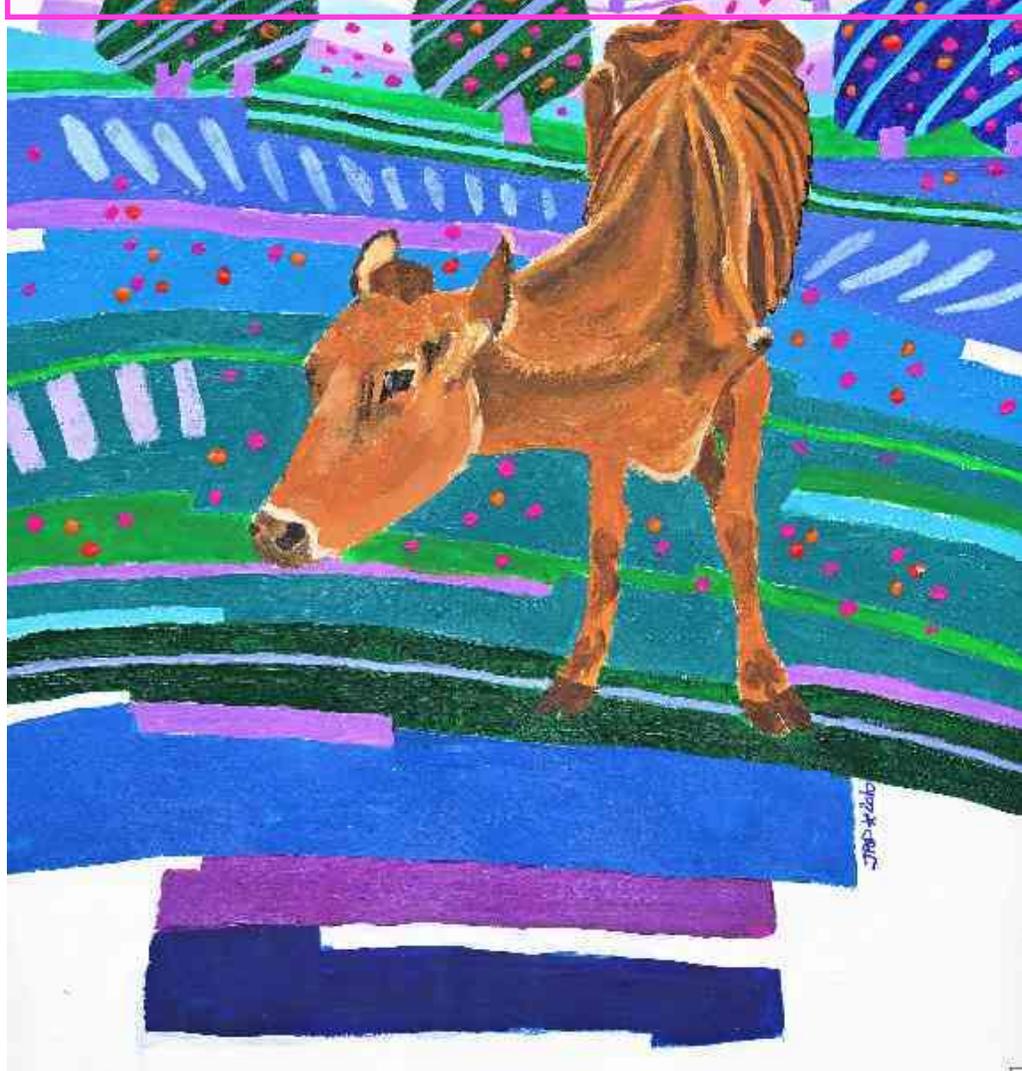


Actualités sur la paratuberculose des ruminants



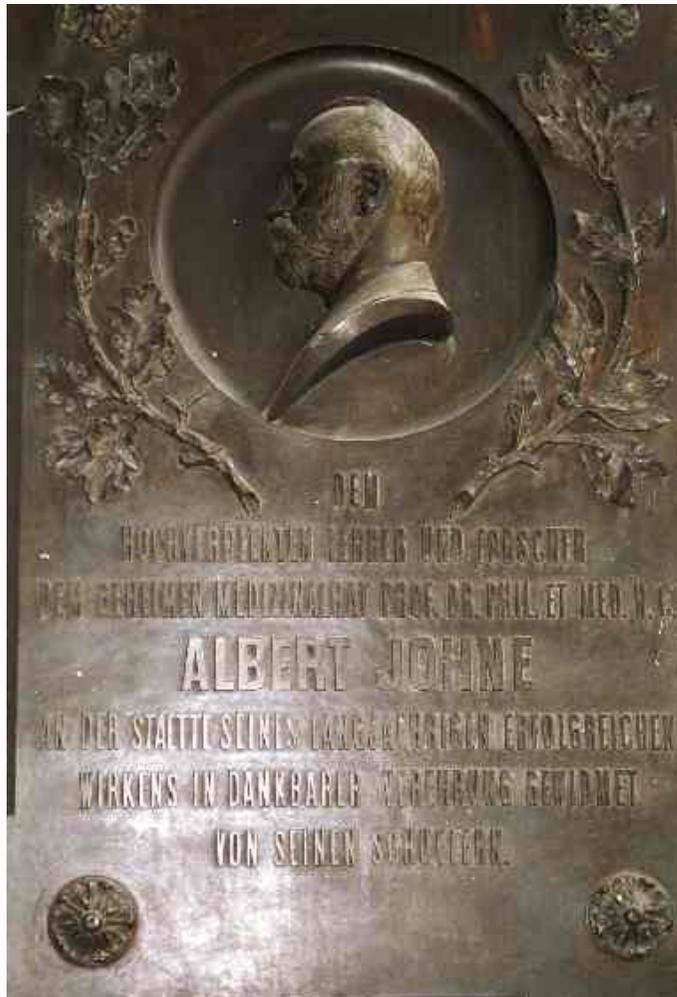
Pr Jeanne Brugère-Picoux



Académie vétérinaire de France
2 février 2012

!!

La paratuberculose ou maladie de Johne



1895

Albert Johne
& L. Frothingham

1^{ère} description de la maladie



Due à *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* (*Map*)



Parasite obligatoire de l'hôte (*il ne se multiplie dans les conditions naturelles que chez l'hôte*)
= source de l'infection (**fèces, lait ... et eau?**)

!!



Survie importante dans le **sol et l'eau** :!

!!

Augmentation du risque d'infection selon !

!!

l'importance de l'excrétion dans le troupeau!

MAP peut survivre > 1 an dans le lisier!

CONTAMINANT DE L'ENVIRONNEMENT !

Map dans une culture
de macrophages

<http://johnes.org/>



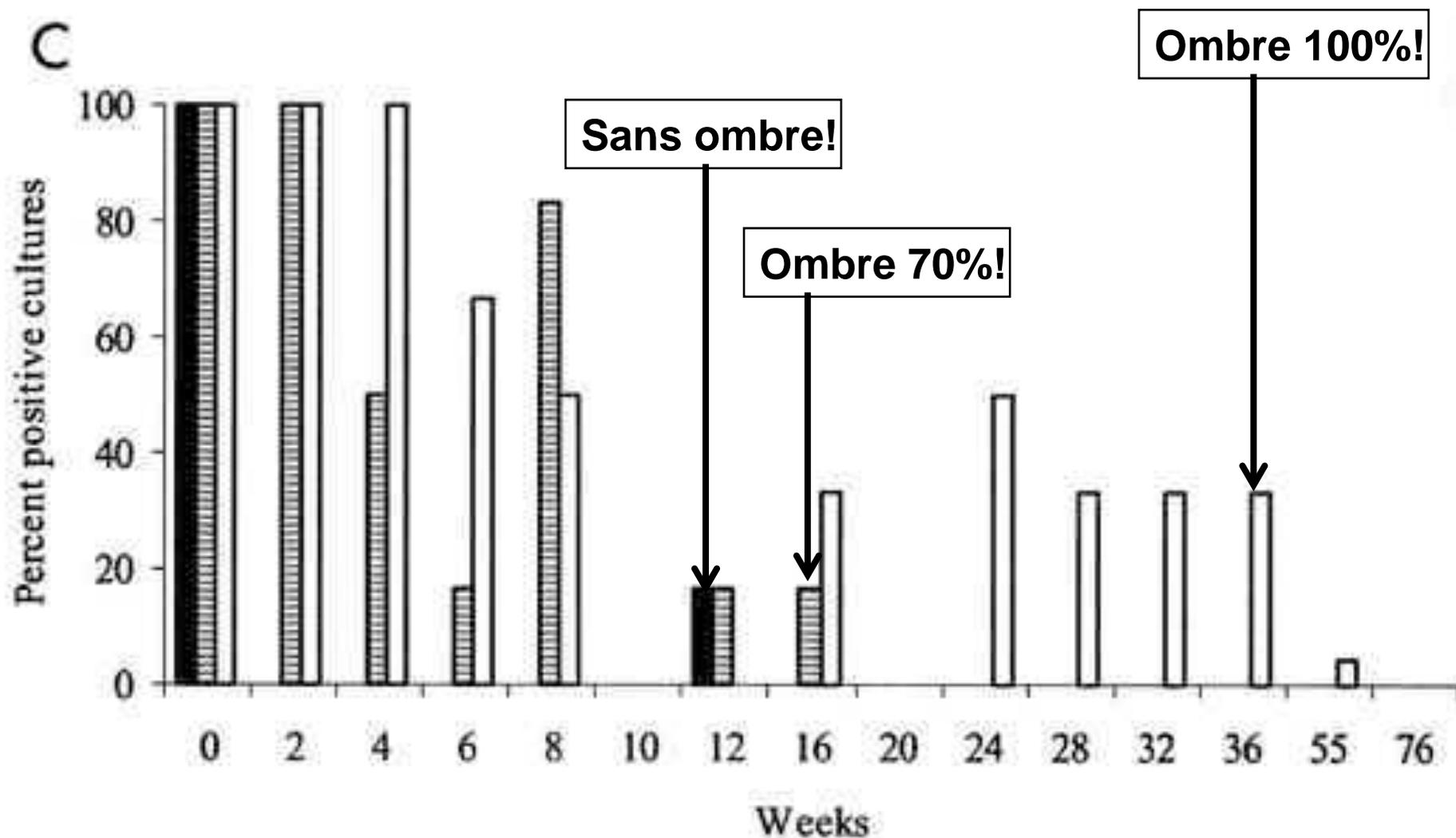
Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. Lutte contre la paratuberculose
8. Paratuberculose et sécurité alimentaire



Résistance de MAP dans le sol#

(Whittington et al, J. Dairy Sci.2004)



Survie dans le sol (fèces) jusqu'à 55 semaines à l'ombre!

Survie de *Map* dans l'environnement

- ! Protozoaires bactériovores
Acanthamoeba castellanii

Cirillo JD et al. *Infect Immun*,1997,65:3759.

- ! & *A. polyphaga*

- ! (survie de *Map* et résistance au chlore)

Mura et al. *Appl Environ Microbiol*,2006,72,854.
Whan L et al. *BMC Microbiol*,2006,6:63.

- ! Démonstré pour *Map* dans des terrains non contaminés par des élevages

White CI et al. *Vet rec*,2010:166:101.

- ! Contamination de l'environnement:

–! Couloirs (77%)

–! Lisiers (68%)

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* in free-living amoebae isolated from fields not used for grazing

C. I. White, R. J. Birtles, P. Wigley, P. H. Jones

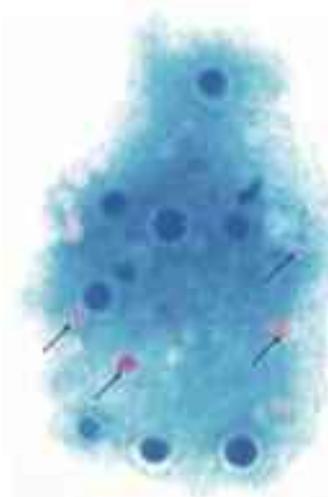


FIG 1. Intracellular acid-fast staining within an amoeba. Intracellular colonisation of the amoeba appears to occur in discrete wicoules within the cytoplasm, identifiable as spherical red-pink inclusions (arrow) with the amoeba. Ziehl-Neelsen, methylene blue counterstain. x1000



Prélèvements dans l'environnement

J. Dairy Sci. 89:963–970

© American Dairy Science Association, 2006.

Environmental Sampling for Detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* on Large California Dairies

R. D. Berghaus,*¹ T. B. Farver,* R. J. Anderson,† C. C. Jaravata,* and I. A. Gardner‡

*Department of Population Health and Reproduction, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis 95616

†California Department of Food and Agriculture, Animal Health Branch, Sacramento 95814

‡Department of Medicine and Epidemiology, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis 95616

Tests sur échantillons prélevés dans l'environnement : MOINS COÛTEUX

Comparaisons avec le test ELISA sur > 60 vaches dans 23 troupeaux ayant été positifs en culture fécale

Résultats :

Corrélation entre les tests des échantillons provenant de l'environnement positifs en culture et les résultats sur les animaux , en particulier sur les prélèvements en milieu liquide



Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. Lutte contre la paratuberculose
8. Paratuberculose et sécurité alimentaire



Map dans l'eau

- ! On ne recherche pas souvent *Map* dans l'eau.
- ! Survie de *Map* dans l'eau
- ! *Map* est résistant aux produits chlorés
- ! Risque par lessivage du sol vers les eaux de captage

Aboagye G & Rowe MT. Water res, 2011, 45:3271.

- ! *M. avium* (très proche de *MAP*) peut être retrouvé dans l'eau.
- ! Eau du robinet?
- ! Transmission par bio-aérosol

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 2010, p. 6310–6312
0099-2240/10/\$12.00 doi:10.1128/AEM.00998-10
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 76, No. 18

Presence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Environmental Samples Collected on Commercial Dutch Dairy Farms[†]

Susanne W. F. Eisenberg,^{1*} Ad P. Koets,¹ Jeroen Hoeboer,^{1,2} Marina Bouman,³ Dick Heederik,¹ and Mirjam Nielen¹

¹Department of Farm Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht, Netherlands; ²Division of Immunology, Department of Infectious Disease and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht, Netherlands; and ³Institute for Risk Assessment Sciences, Utrecht University, Utrecht, Netherlands[†]

Received 25 April 2010/Accepted 15 July 2010

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis*, the causative agent of Johne's disease in cattle, was identified in settled-dust samples of Dutch commercial dairy farms, both in the dairy barn and in the young stock housing. Bioaerosols may play a role in within-farm *M. avium* subsp. *paratuberculosis* transmission.

Reproduction expérimentale d'une contamination par bio-aérosol, réalisée au Canada sur 14 veaux

Eisenberg SWF et al. Vet Res, 2011, 42:117.



Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. "Traitement" de la paratuberculose
8. Vaccination contre la paratuberculose



- ! Les jeunes ruminants sont les plus susceptibles.
- ! Cependant **les animaux adultes** peuvent être infectés si l'environnement est extrêmement contaminé
- ! Etude rétrospective effectuée sur **140 bovins nés entre 1938 et 2006** et ayant été infectés expérimentalement montre que se sont révélés sensibles:
 - ! 75% des veaux < 6 mois
 - ! 50 % des veaux entre 6 mois et 12 mois
 - ! 20% des bovins >12 mois

Windsor PA & Whittington RJ. Vet J. 2010,184:37.



M. Collins, Wisconsin!



Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. "Traitement" de la paratuberculose
8. Vaccination contre la paratuberculose



Sources de contamination

Infection des veaux dans le plus jeune âge par contamination fécale, par le colostrum et le lait (Sweeney 1996)



On a longtemps considéré que les animaux sont excréteurs à partir de l'âge de 2 ans (Chiodini 1984) et qu'il ne sont pas infectieux avant cet âge

!!



Excréteurs avant l'âge de 2 ans!

!

Weber et al, *Prev Vet Med* oct 2010!

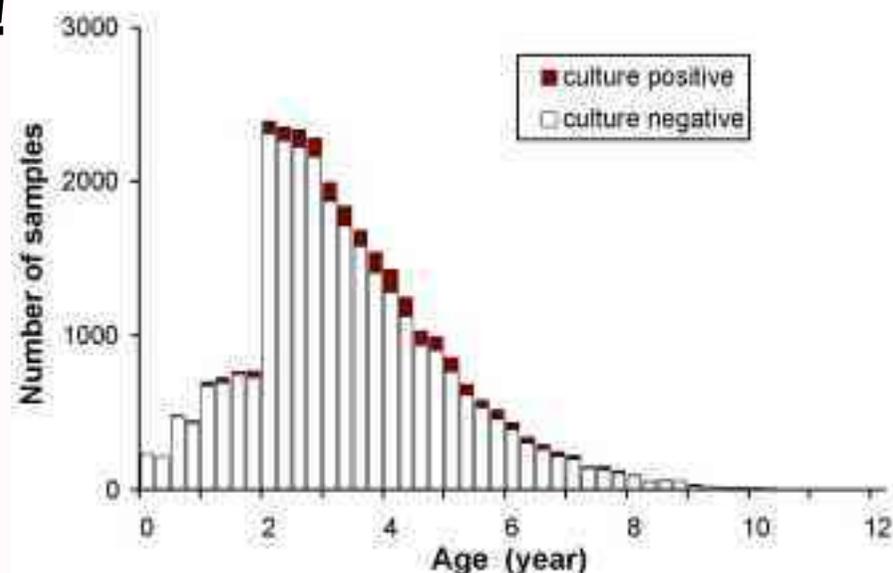
Culture fèces de 18 979 bovins laitiers!

!

(353 troupeaux entre 1996 et 2002)!

!

!! dans les troupeaux à forte prévalence



MAIS IL A ÉTÉ MONTRÉ AUSSI QU'IL Y AVAIT UNE EXCRÉTION pendant!

!!

un temps très court après une inoculation de fortes doses de *MAP* par!

!!

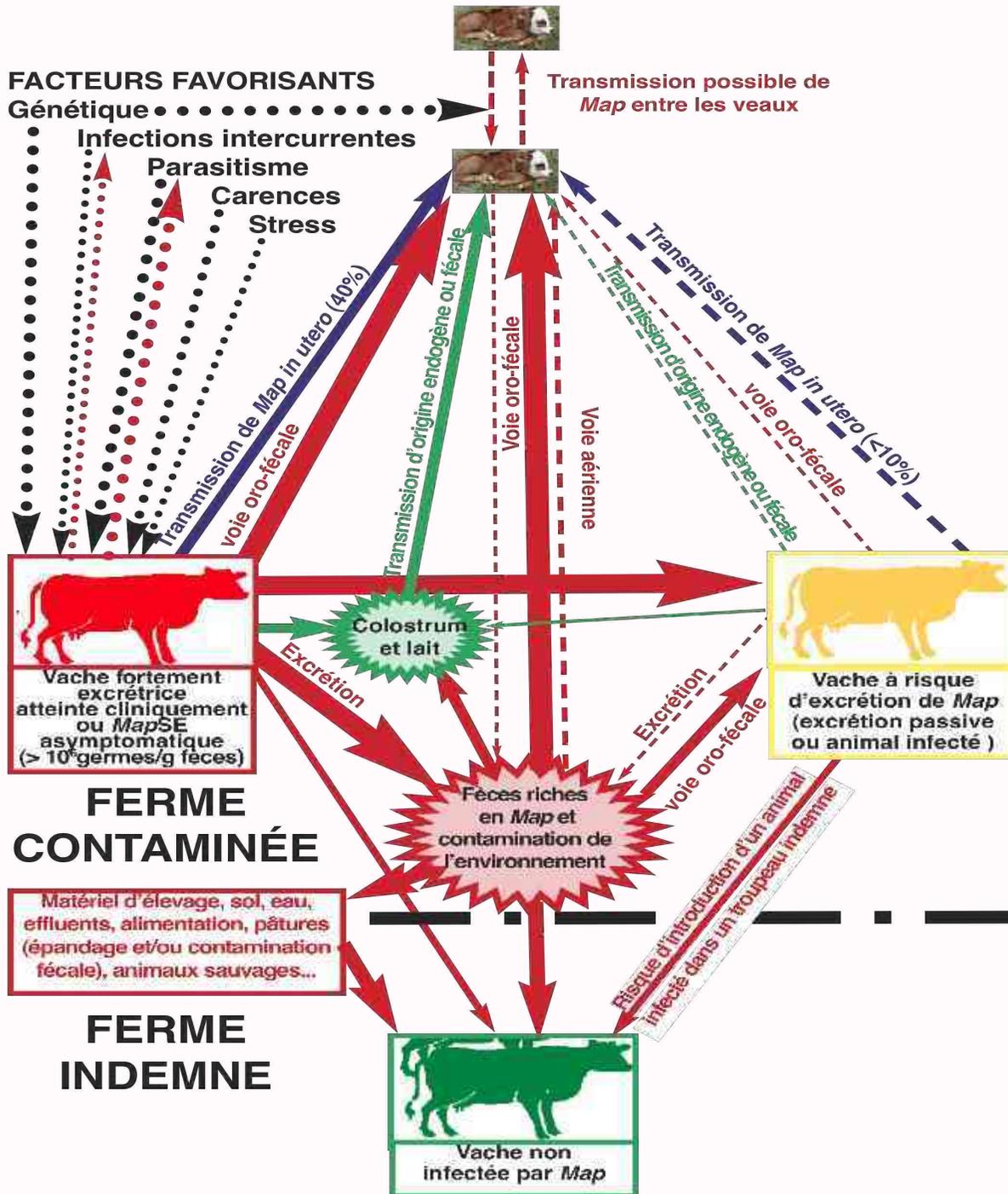
la voie orale à l'âge de quelques semaines (Van Roermund et al, 2007) :!

!!

«Excrétion passive de *MAP*» chez le veau!



!!!



- dès l'âge de 8 mois chez des veaux naturellement infectés

Antognoli MC et al. Zoonoses Public Health. 2007,54:152.

- origine de cette excrétion fécale précoce:

contamination transitoire d'un animal non infecté,
infection qui a été jugulée,
infection réelle qui n'a pas été contrôlée évoluant vers la chronicité

ou erreur de laboratoire (ce phénomène n'est pas observé systématiquement).

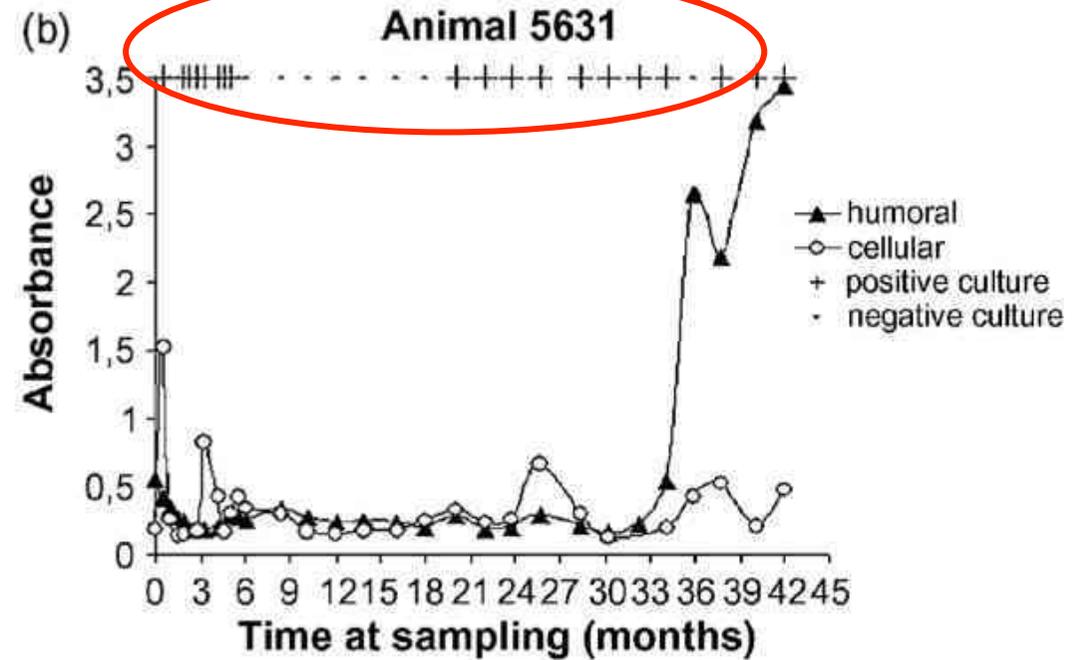
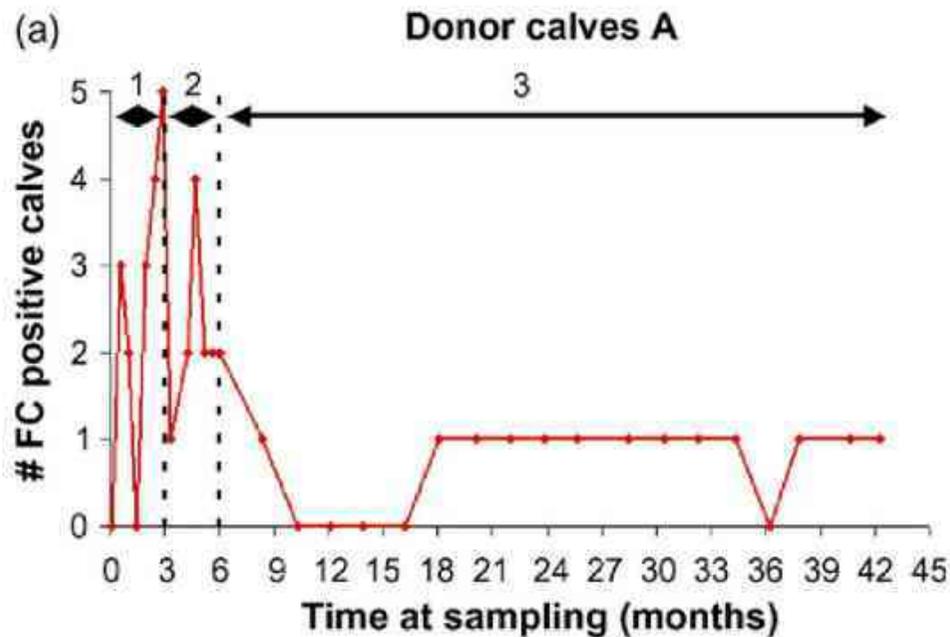
Pithua P et al. Prev Vet med, 2010,93:242.



Expérience de van Roermund et al (Vet. Microbiol, 2007)

Sept 2001 : 2 groupes de 5 veaux naïfs (groupe A) en contact !
avec 6 vaches+ pendant 3 mois

👉 veaux naïfs = veaux donneurs groupe A



Cultures +



Expérience de van Roermund et al (Vet. Microbiol, 2007)

Janvier 2002 : 2 groupes de 5 autres veaux naïfs en contact!

!!! ! les 2 groupes de veaux donneurs pendant 3 mois

👉 veaux naïfs de ce second essai = veaux receveurs

Positive faecal culture test results of calves of group A during cow-calf transmission experiment in Period 1 (seven tests at 2-week intervals), during calf-calf transmission experiment in Period 2 (five tests at 2-week intervals), and during individual housing in Period 3 (19 tests at 2-months intervals)

Groupe A :
3 veaux donneurs
restant excréteurs
après 3 mois

Calf number	Cow-calf transmission (Period 1)	Calf-calf transmission (Period 2)	Individual housing (Period 3)
5628	2/7	4/5	3/19
5629	4/7	0/5	0/19
5630	4/7	2/5	0/19
5631	4/7	4/5	11/19
5632	3/7	1/5	1/19
Totals	Five calves infected ^a in Period 1	Four calves infectious ^a in Period 2	

These calves are called donor-calves in Period 2. Positive results were always FC+, i.e. 1–10 colonies per tube (0.16 g faeces).



Expérience de van Roermund et al (Vet. Microbiol, 2007)

Janvier 2002 : 2 groupes de 5 autres veaux naifs en contact!

!!! avec les 2 groupes de veaux donneurs pendant 3 mois

👉 veaux naifs de ce second essai = veaux receveurs

Positive faecal culture test results of the receiver-calves of group A during the calf-calf transmission experiment in Period 2 (five tests at 2-week intervals), and during individual housing in Period 3 (19 tests at 2-months intervals)

Calf number	Cow-calf transmission (Period 1)	Calf-calf transmission (Period 2)	Individual housing (Period 3)
6032	—	0/5	3/19
6033	—	0/5	0/19
6034	—	0/5	2/6 ^a
6035	—	0/5	0/19
6036	—	0/5	0/19
Totals			Two calves infected ^b in Period 2

2 veaux receveurs
excréteurs après 3
mois

Positive results were always FC+, i.e. 1–10 colonies per tube (0.16 g faeces).

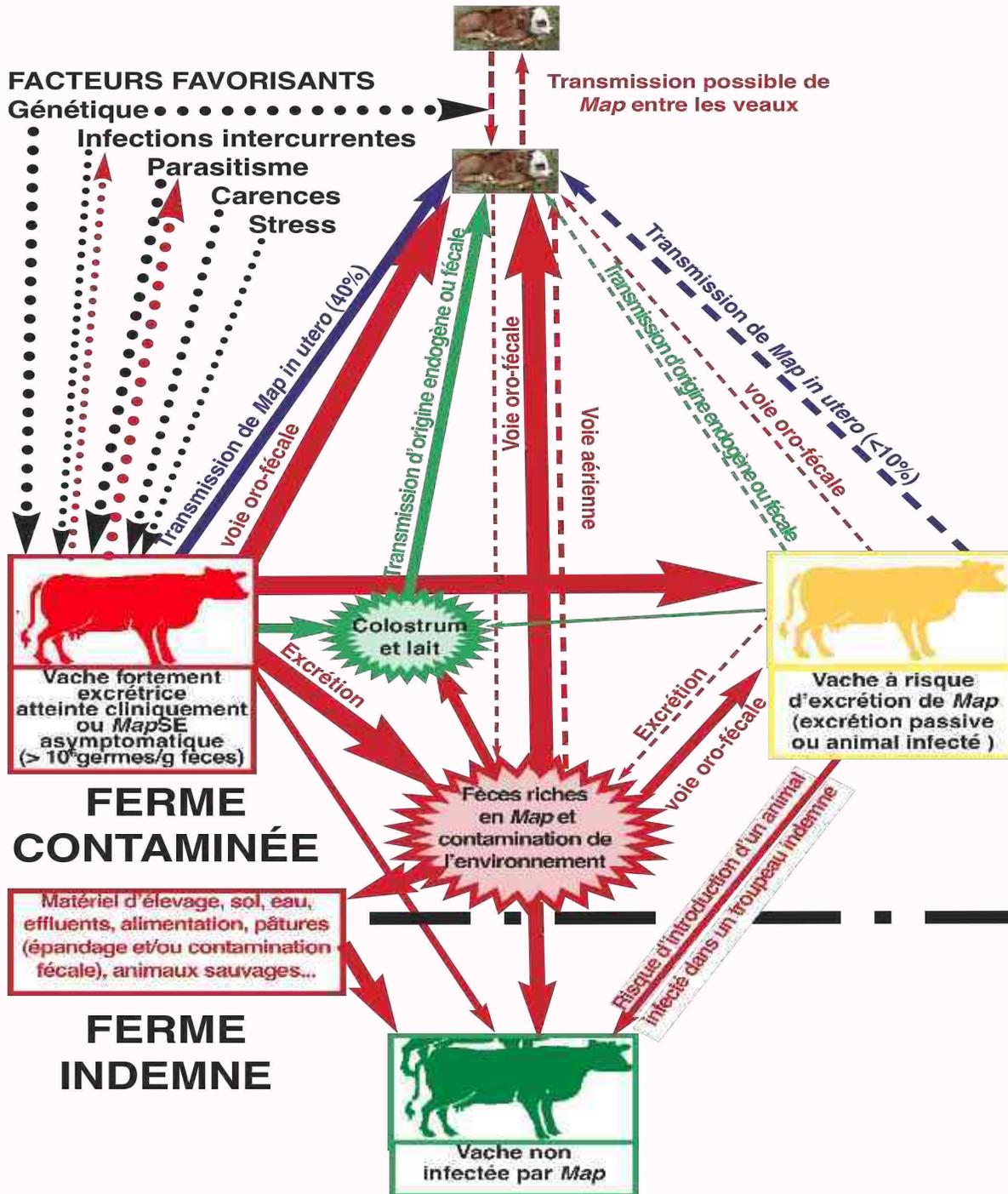
^a Animal culled in month 16 (December 2002) because of lameness.



Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. Lutte contre la paratuberculose
8. Paratuberculose et sécurité alimentaire





3 types de vaches excrétrices :

1. Vache à excrétion faible
2. Vache atteinte cliniquement à excrétion importante
3. Vache superexcrétrice (*MapSE*)

excrétant 100 à 1000 fois plus de *Map* qu'une vache fortement excrétrice classique en phase clinique (>10 000 UFC* de *Map*/g de fèces, jusqu'à 10⁷UFC/g)

= source principale des *Map* contaminant l'environnement

une vache adulte ingérant 1 g de bouse émise par une vache *MapSE* devient une *excrétrice transitoire* (ce qui est important à considérer lors d'une première culture fécale positive), mais elle peut s'infecter si elle est exposée de manière répétée.

*UFC : unités formant colonie.

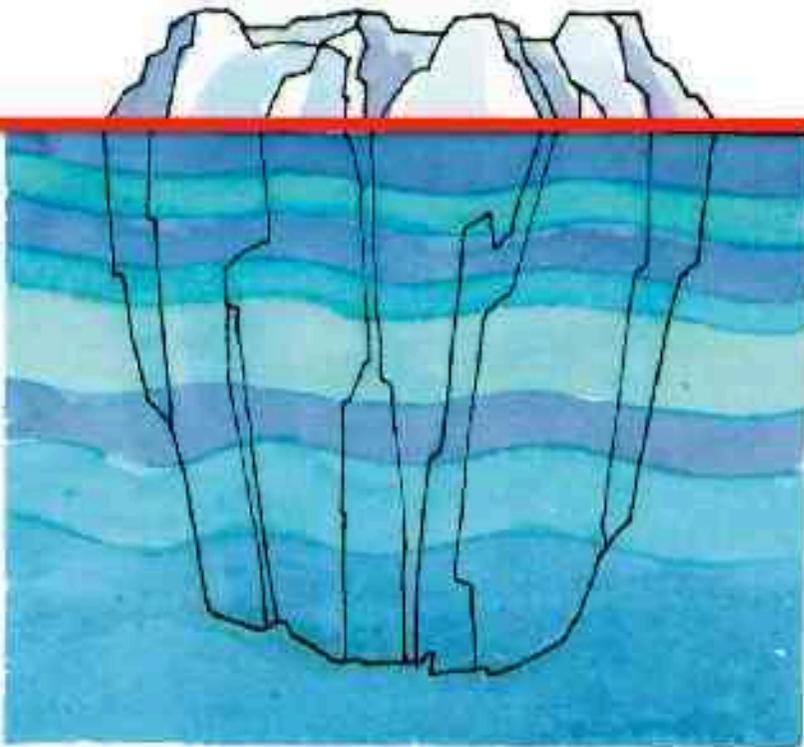


Actualités sur la paratuberculose des ruminants

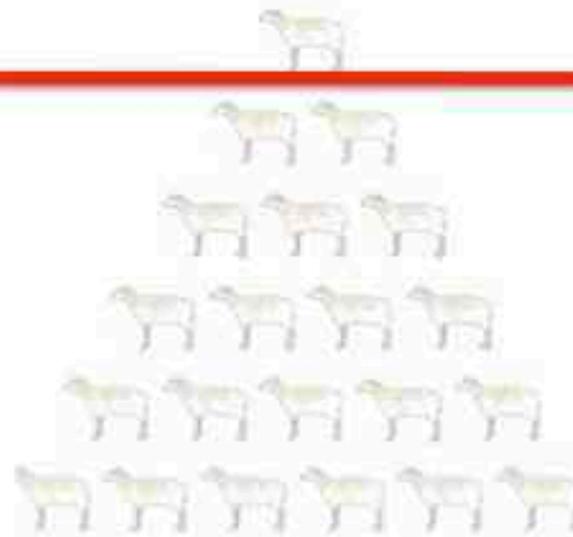
1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. Lutte contre la paratuberculose
8. Paratuberculose et sécurité alimentaire



Perception clinique du problème



Réel problème dans le troupeau



Animaux infectés malades
(1%)

Atteinte subclinique

Animaux amaigris et excréteurs, tests positifs
(1% à 2%)

Animaux asymptomatiques excréteurs

Tests sérologiques positifs
(6% à 8%)

Animaux asymptomatiques non excréteurs

Tests sérologiques positifs
(10% à 15%)

Animaux non infectés

(74% à 82%)

Aspects cliniques

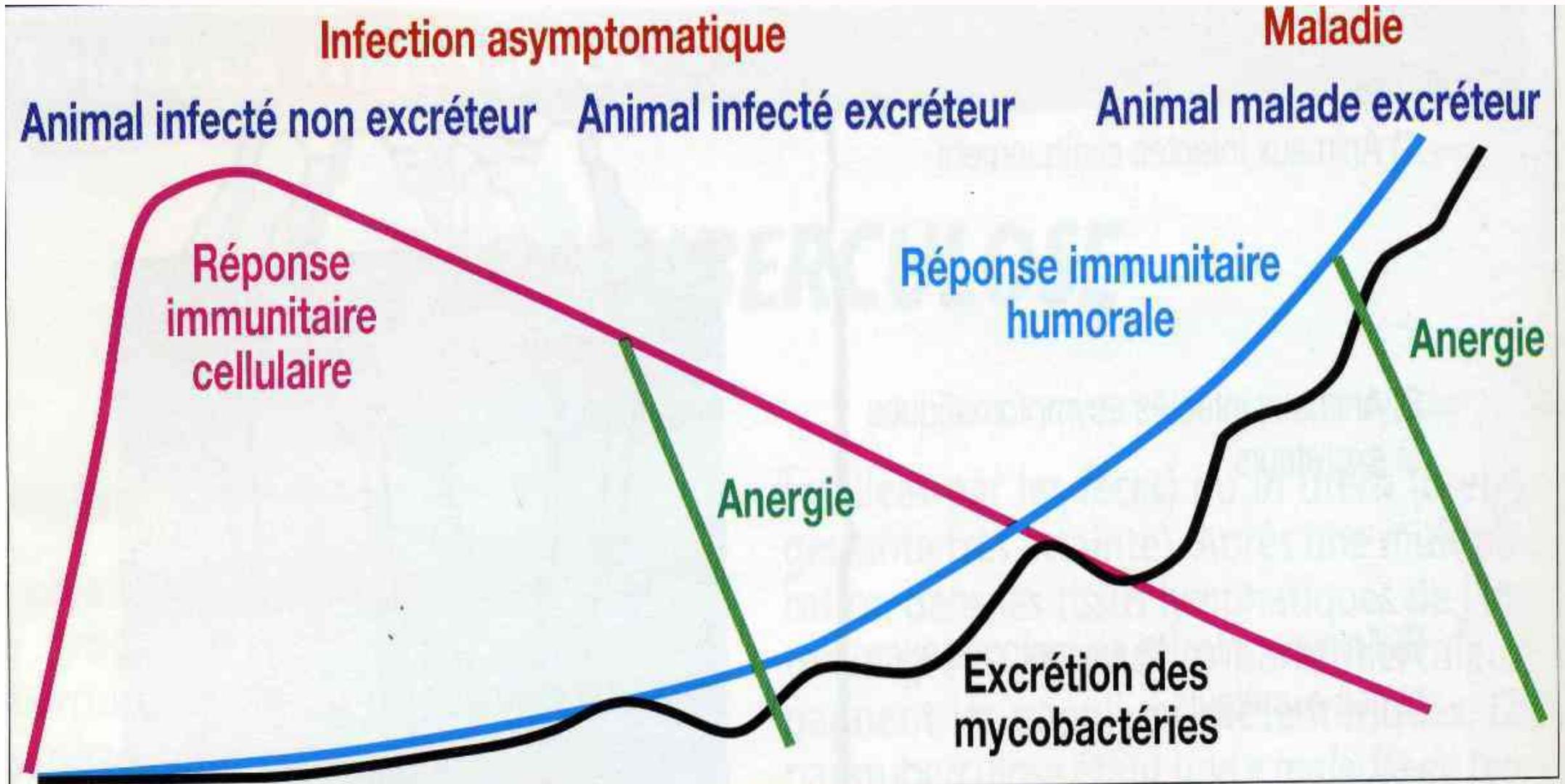
**Affection digestive
cachectisante
(ruminants adultes)!**

**✿ Diarrhée intermittente !
! puis incoercible (bovins)**

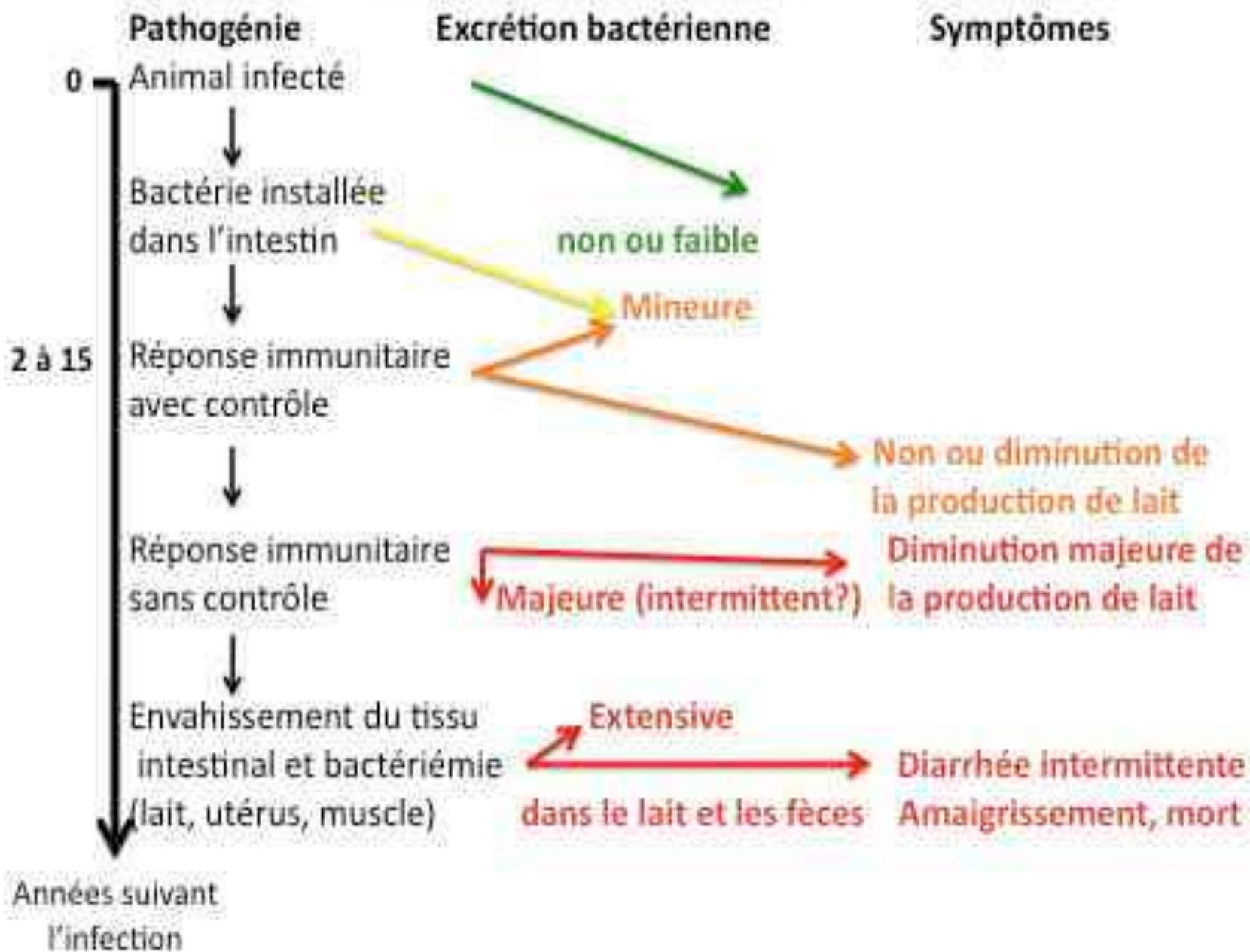
**✿ Amaigrissement !
! progressif!**



Pathogénie de la paratuberculose: Immunologie



Pathogénie de la paratuberculose (d'après Nielsen, 2009)



Diagnostic de la paratuberculose

Laboratoire



Méthodes directes



- ✿ **Bactérioscopie**
- ✿ **Culture**
- ✿ **Sonde génétique**
- ✿ **Biopsie**

M. Collins, site internet



Diagnostic de la paratuberculose

Laboratoire



Méthodes indirectes



Tests immunologiques à médiation cellulaire



Tests immunologiques à médiation humorale

ELISA

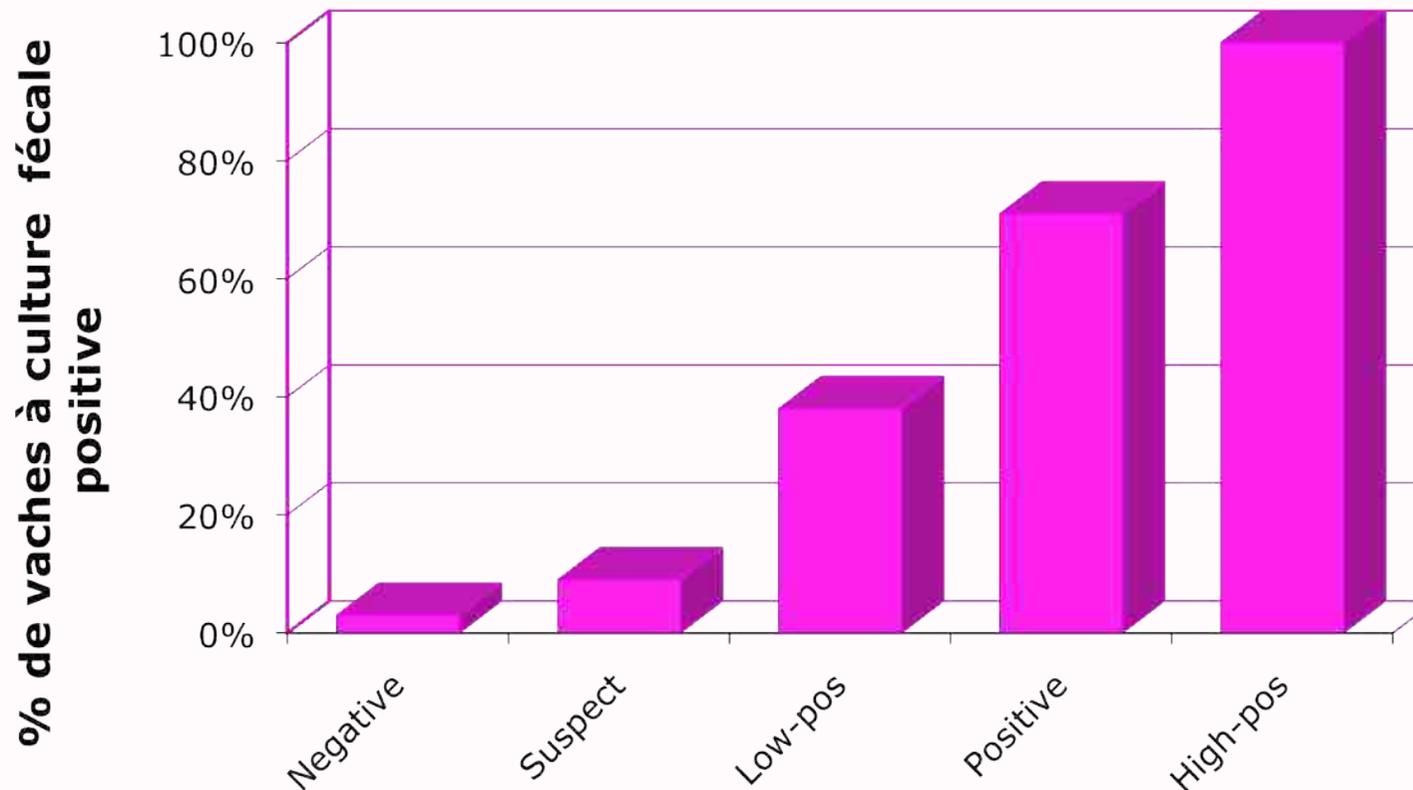


Utilisation des tests de diagnostic

Objectifs du test	Vaches laitières	Bovins à viande	Chèvres	Moutons	Tout reproducteur
Programme de contrôle des troupeaux à forte prévalence s'infection par <i>Map</i> (>5% testés positifs)	ELISA	ELISA	ELISA	Culture fécale sur mélange ou PCR	Culture fécale ou PCR sur chaque animal
Surveillance	Culture sur mélange de fèces ou sur prélèvements dans l'environnement	Test de confirmation des cas suspects cliniquement	Culture sur mélange de fèces ou sur prélèvements dans l'environnement	Culture sur mélange de fèces ou sur prélèvements dans l'environnement	NR
Eradication	Culture ou PCR sur mélange de fèces	Culture ou PCR sur mélange de fèces	Culture ou PCR sur mélange de fèces	PCR sur mélange de fèces	Culture fécale ou PCR sur chaque individu
Confirmation d'un diagnostic clinique sur des animaux dans des troupeaux sans antécédent de paratuberculose	Autopsie culture fécale ou PCR sur chaque animal	Autopsie culture fécale ou PCR sur chaque animal	Autopsie culture fécale ou PCR sur chaque animal	Autopsie ou PCR sur les fèces de chaque animal	Culture fécale ou PCR et histopathologie sur les prélèvements tissulaires obtenus par biopsie ou à l'autopsie
Confirmation d'un diagnostic clinique sur des animaux dans des troupeaux infectés par <i>Map</i>	ELISA, culture fécale ou PCR	ELISA, culture fécale ou PCR	ELISA, culture fécale ou PCR	PCR sur fèces	Culture fécale ou PCR et histopathologie sur les prélèvements tissulaires obtenus par biopsie ou à l'autopsie



Le test ELISA sur le lait est prédictif de l'excrétion fécale de *MAP*



Résultats du test ELISA sur le lait

Hendrick (OVC, Guelph), JAVMA, 226:424, 2005.

Avec l'aimable autorisation de M.Collins

Les vaches paratuberculeuses ne sont pas toutes maigres

IDEXX ELISA S/P = 2.0



Avec l'aimable autorisation de M.Collins

**Relationships between clinical signs,
pathological changes and tissue distribution
of *Mycobacterium avium* subspecies
paratuberculosis in 21 cows from herds
affected by Johne's disease**

C. BRADY, D. O'GRADY, F. O'MEARA, J. EGAN, H. BASSETT

Veterinary Record February 2, 2008



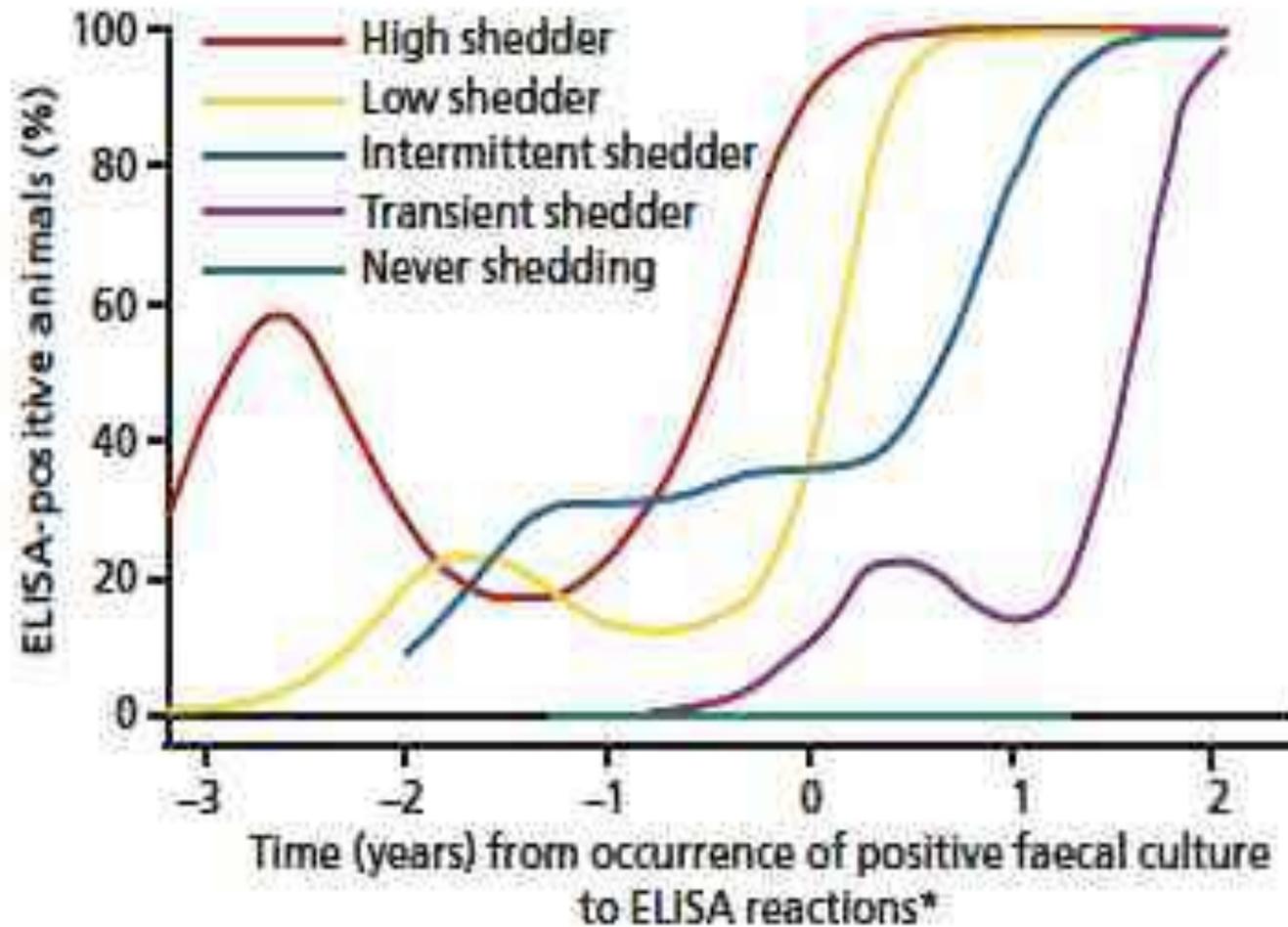
TABLE 3: Distribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) in the 11 pooled samples of tissues from 21 cows from eight herds affected by Johne's disease

Animal*	Head LNs	Thoracic organs	Terminal ileum	Mesenteric LN	Ileocaecal LN	Caecal contents	Small intestine	Large intestine	Abdominal organs	Prescapular and popliteal LN	Supramammary LN and mammary gland
A1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A2	CT	+	+	+	+	+	+	+	CT	+	CT
A3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A4	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-
A5	+	+	NR	+	NR	+	NR	NR	+	-	NR
A6	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
A7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
B1	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B2	-	+	+	+	NR	-	-	-	-	-	-
B3	CT	+	+	NR	+	+	+	+	+	+	NR
B4	+	+	+	+	+	CT	+	+	+	+	+
B5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B6	CT	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
C1	+	+	+	+	+	NR	+	+	+	+	+
C2	+	-	+	-	+	+	NR	-	NR	NR	NR
C3	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	NR
C4	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
D1	+	+	+	+	+	NR	-	+	CT	+	+
D2	-	+	+	+	NR	NR	+	-	-	+	+
D3	-	-	+	-	+	CT	+	-	-	NR	-
D4	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-

ELISA-positive; cliniquement normales

* Group A Persistent diarrhoea, Group B Intermittent diarrhoea, Group C No diarrhoea but illthriven, Group D Clinically normal
 LN Lymph node, + MAP cultured, CT Contaminated, - MAP not cultured, NR No result

Pourcentage de vaches testées positives en utilisant le test ELISA Pourquoiier (lait) en fonction du moment où l'on observe une excrétion forte (High), faible (low), intermittente ou transitoire (Nielsen. 2009. *Agri-practice*)



Actualités sur la paratuberculose des ruminants

1. Survie de *Map* dans l'environnement
2. Présence de *Map* dans l'eau et transmission possible par bio-aérosols
3. Adultes également sensibles à la contamination par *Map*
4. Excrétion fécale de *Map* possible chez des veaux
5. Vaches superexcrétrices de *Map*
6. Amélioration des méthodes de diagnostic de la paratuberculose
7. **Lutte contre la paratuberculose**
8. **Paratuberculose et sécurité alimentaire**



Arrêt de la vaccination en France : 2001

Vaccin idéal contre la paratuberculose:

Caractéristiques du vaccin	Vaccins à bacilles entiers en adjuvant huileux	Vaccin idéal contre MAP
Prévient la maladie clinique chez les animaux non infectés	Oui	Oui
Prévient la maladie clinique chez les animaux déjà infectés	Oui au premier stade de l'infection	Oui
Prévient l'installation de l'infection	Non	Oui
Réaction lésionnelle au point d'injection	Oui	Non
Lésion lors d'inoculation accidentelle du vaccin chez l'homme	Oui	Non
Provoque des réactions faussement positives dans les tests de détection de la tuberculose	Oui	Non
Provoque des réactions faussement positives dans les tests de détection de la paratuberculose	Oui	Non

Tableau IV: Caractéristiques des vaccins comportant des bacilles entiers tués en adjuvant huileux par comparaison avec le vaccin idéal contre *Map*



Lutte contre la paratuberculose!

👉 Arrêt de la vaccination !

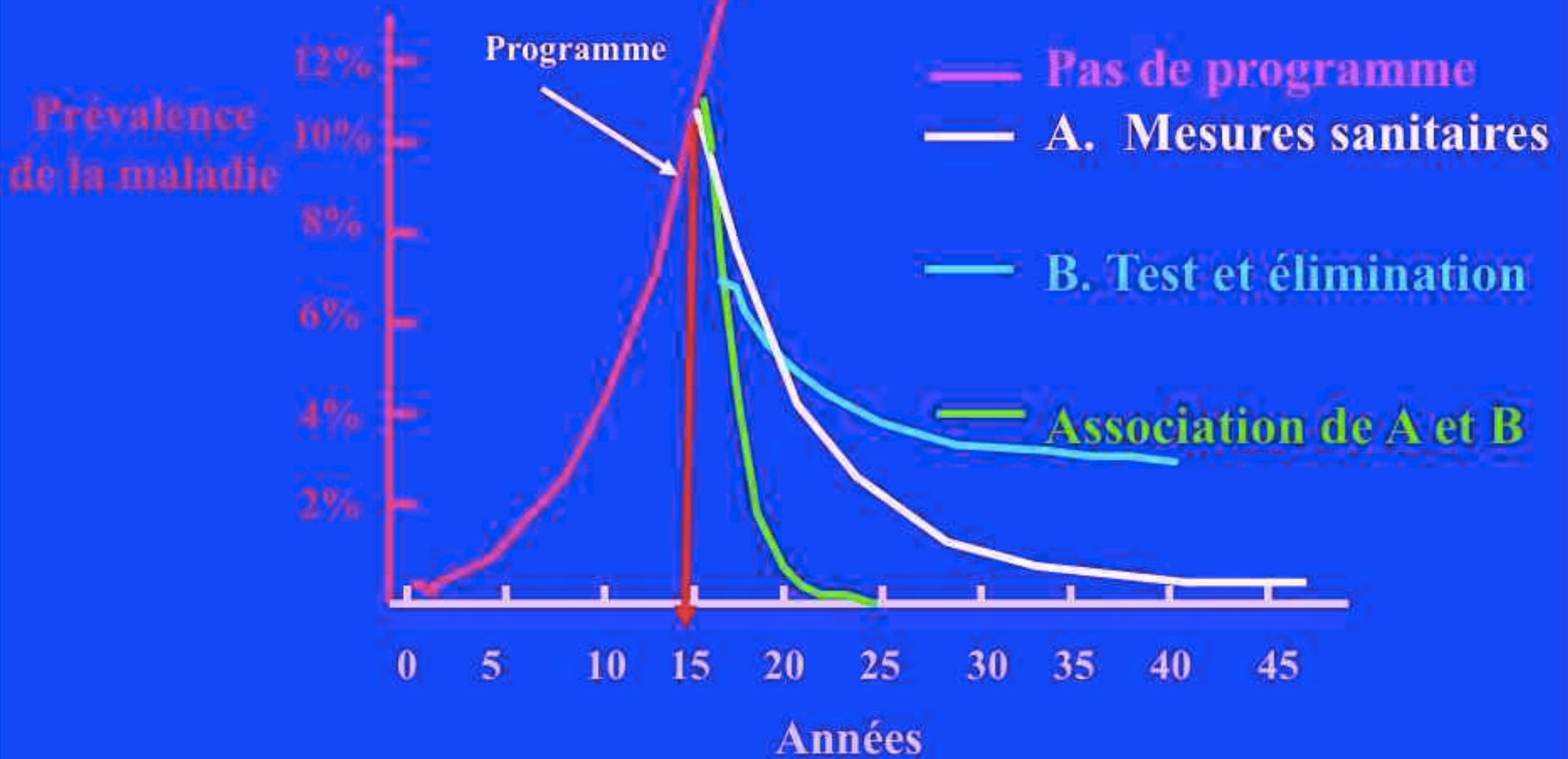
! A l'exception Vaccin inactivé Gudair N.D.
(Importation d'Espagne sur demande d'autorisation pour importation auprès de DDPP (services vétérinaires) pour les petits ruminants depuis mars 2009!

👉 Mesures sanitaires (méthode HACCP)!

- 1) Prévenir la contamination des troupeaux !
👉 biosécurité!
- 2) Limiter la dissémination dans la ferme!
👉 Meilleures techniques de gestion !
! sanitaire (décontamination...) !
- 3) Tester les troupeaux et éliminer les bovins positifs !



Simulation mathématique d'un programme d'éradication de la paratuberculose



Importance des mesures sanitaires associées aux tests de dépistage pour l'éradication de la paratuberculose

(Collins et Morgan, 1991)



Difficultés du contrôle

**Pour l'éleveur le coût du
contrôle excède
le coût de la maladie**



**L'augmentation de la sensibilité de ces tests
aura pour conséquence une augmentation des
animaux positifs et ainsi un plus grand
nombre de cheptels à assainir.**



Conséquences

La paratuberculose continue à se propager dans les troupeaux et représente un risque médiatique de suspicion de zoonose.

