



Le diagnostic et le suivi de la maladie des muqueuses :

Intérêt de la RT-PCR, méthode de détection du génome viral

EDITO

La détection des ARNs viraux ou d'ARNs messagers par PCR nécessite une première étape de réverse transcription des ARNs en ADN complémentaire.

Le couplage de cette étape et de la PCR est abrégé sous le terme RT-PCR. D'abord réalisées en deux étapes distinctes, la RT-PCR s'est simplifiée avec l'utilisation de réactifs très performants.

Intégrant ces dernières avancées dans notre nouveau kit Adiavet BVD, vous pourrez constater qu'il est aujourd'hui aussi simple de réaliser de la PCR ou RT-PCR.

C'est en vous souhaitant bonne lecture que je vous laisse prendre connaissance de nos recherches concernant la détection du virus BVD par RT-PCR.

Dr Bruno Chevallier,
PDG d'Adiagène

Contacts

infos@adiagene.fr

Service technique

technique@adiagene.fr

Notre distributeur

AES Laboratoire
aes@aeslaboratoire.com
Votre contact : Tony Rouillard
tony.rouillard@aeslaboratoire.com

Tél. 02 99 73 11 55
Fax. 02 99 73 15 89

Adiagène - 38, rue de
Paris - 22000 SAINT-BRIEUC -
Tél. 02 96 68 40 20 - Fax. 02 96 68 37 93

La maladie des muqueuses

Le BVDV est l'un des principaux pestivirus, parmi lesquels on retrouve le virus de la maladie des frontières ou celui de la peste porcine. Le BVDV (Bovine Viral Diarrhoea Virus) est à l'origine de deux affections distinctes chez les bovins : la diarrhée virale bovine et la maladie des muqueuses.

Cette dernière maladie est caractérisée dans sa forme aiguë par une diarrhée nauséabonde et une stomatite ulcéreuse. Sa forme chronique provoque un amaigrissement progressif qui aboutit à une cachexie.

Diagnostic

La principale difficulté de diagnostic et de suivi des élevages infectés par la maladie des muqueuses réside dans l'existence d'animaux contaminés in utero qui naissent **Infectés Permanents Immunotolérants (IPI)**. Ces animaux très contagieux se révèlent séronégatifs, de plus la recherche du virus par antigénémie peut s'avérer négative, durant les premiers mois de vie, en raison de la persistance d'anticorps colostraux. La culture virale est par ailleurs longue et fastidieuse.

La double recherche virologie / sérologie permet

actuellement de qualifier les animaux vis à vis du virus :

Viro- / séro + : animal infecté transitoirement depuis au moins trois semaines

Viro- / séro- : animal indemne ou IPI très jeune ou animal infecté transitoire n'ayant pas encore séroconverti (l'infection date de moins de trois semaines)

Viro + / séro- : IPI ou animal infecter de façon transitoire

Le schéma épidémiologique montre qu'un animal IPI doit être détecté de façon précoce car il est une source continue de contamination dans un troupeau. Pour cela il est nécessaire de mettre en oeuvre des tests de détection rapides et sensibles.

Développement d'un test RT-PCR

Adiagène a développé un test permettant de détecter l'ARN du virus. Il a été comparé à l'antigénémie P80, sa sensibilité et son efficacité chez de jeunes animaux ont été vérifiées.

Enfin, Adiagène s'est attaché à adapter les protocoles à des problématiques de suivi d'élevage, notamment en travaillant sur des pools de sang et des prélèvements de lait de tank.

Comparaison à l'antigénémie P80

Sur 163 animaux prélevés (sangs sur anti-coagulants), 46 sont positifs et 115 sont négatifs en BVD par antigénémie P80 et par RT-PCR. Deux animaux douteux en antigénémie ont été confirmés positifs par RT-PCR. En terme de sensibilité sur des animaux adultes, les deux techniques sont donc comparables.

Un test très sensible permettant la détection d'IPI de moins de 6 mois

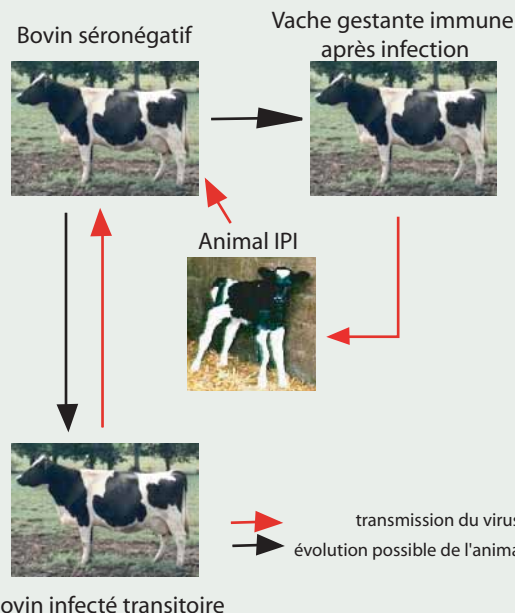
La sensibilité théorique du test a été évaluée en diluant un sang positif dans des sangs négatifs et en diluant expérimentalement un extrait positif.

Un sang positif peut être détecté dans un mélange de d'au moins 31 sangs négatifs. Un extrait d'ARN reste positif en PCR après avoir été dilué au 1000ème.

Le sensibilité sur animaux très jeunes a été évaluée en testant 16 animaux de moins d'un an (dont 5 de moins de 6 mois) présentant des signes cliniques de la maladie des muqueuses. 11 animaux ont été trouvés négatifs et 5 animaux ont été trouvés positifs avec le test (dont 3 de moins de 6 mois).

Le test RT-PCR BVD est donc utilisable sur des animaux de moins de 6 mois.

Epidémiologie



Actus



Christelle BURLOT, diplômée de l'UT de Biologie de Saint Briec (Promo 1!) vient renforcer l'équipe en Production après 6 années passées en région parisienne.



Nicolas HOUDART est chargé de travailler sur la PCR quantitative dans le cadre de son stage de maîtrise.

Adiagène, c'est aujourd'hui 8 personnes au service du diagnostic PCR.

De nouvelles boîtes plus petites, plus pratiques!



Adiagène ajoute un nouveau format à ses boîtes de kits dans lequel vous retrouverez tous les petits conditionnements.

Pour tout renseignement sur nos kits, veuillez contacter notre distributeur AES Laboratoire (Tél. 02 99 73 11 55, Fax 02 99 73 15 89)

Agenda

Nous étions présent à **Viv'China** à Beijing (Chine) du 24 au 26 avril

Nous serons à Bilbao (Espagne) au 7^e colloque international sur la paratuberculose du 11 au 14 juin

Nous serons présent au 17^e Congrès de la Société internationale de médecine vétérinaire porcine (IPVS) du 2 au 5 juin 2002, Ames (Iowa), Etats-Unis avec notre distributeur américain Immtech.

Des remarques, des idées? Donnez votre avis sur cette lettre d'information à infos@adiagene.fr

Qualifier des élevages à partir de lait de tank

Différents prélèvements (rate, muqueuse buccale, ganglion mésentérique, fèces, écouvillon nasal, lait individuel) permettent l'identification d'animaux IPI par le test RT-PCR.

Une étude a été réalisée sur la possibilité d'utiliser ce test pour qualifier les élevages à partir de lait de tank. 31 laits de tank provenant d'élevages différents ont été testés par RT-PCR. 15 ont été trouvés négatifs et 16 positifs. Dans 14 de ces élevages positifs, le lait individuel d'animaux suspectés d'être IPI a été trouvé positif par RT-PCR. Après élimination de l'animal IPI, les laits de tank de ces 14 élevages ont tous été trouvés négatifs.

La possibilité de qualifier des mélanges de sangs, des laits de tank et des pools d'écouvillons nasaux rendent la RT-PCR tout à fait pertinente pour la qualification d'élevages dans le cadre d'une gestion de la maladie des muqueuses.

Solenn VAILLANT ■



Travaux réalisés par Adiagène en partenariat avec le Laboratoire Agro-Vétérinaire de Rouen, le cabinet Vétérinaire du Haut-Bocage et le groupement de Défense Sanitaire des Côtes d'Armor

Nouveautés

VENEZ VISITER NOTRE NOUVEAU SITE INTERNET !!!

<http://www.adiagene.fr>



Un nouveau site plus complet, avec un topo sur les pathologies et leurs méthodes de diagnostic.

Une base de données de plus de 400 articles sur la PCR et les pathogènes sur lesquels nos chercheurs travaillent depuis 4 ans.

<http://www.adiagene.fr/recherche.php>

Et toujours notre calculateur qui permet de déterminer la quantité d'animaux à prélever dans un élevage pour rechercher un pathogène.

<http://www.adiagene.fr/html/prevalence.htm>

