

# Surveillance et prévalence des EST chez les petits ruminants

L'éventualité d'une contamination des populations ovines et caprines par l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a motivé la mise en place de programmes d'épidémiologie-surveillance des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) des petits ruminants depuis plus de dix ans en France.

L'objectif de cette surveillance était initialement « de connaître et de suivre l'évolution de la situation épidémiologique de la tremblante dans le temps et dans l'espace ». Défini à une époque où il n'existait pas de test permettant de distinguer l'ESB de la tremblante, cet objectif a évolué vers une surveillance des différentes formes d'EST des petits ruminants au fur et à mesure du développement des outils de diagnostic et de discrimination des EST.

## DE LA SURVEILLANCE PASSIVE À LA SURVEILLANCE ACTIVE

Un réseau volontaire de surveillance clinique, Action Tremblante Grand Sud, a tout d'abord fonctionné à l'échelle interrégionale de 1991 jusqu'en 1996. Ce réseau a permis de mettre en évidence 94 cas de tremblante répartis dans 82 élevages.

En 1996, la tremblante des ovins et des caprins a été ajoutée à la liste des maladies réputées contagieuses (décret 96-528 du 14 juin 1996) et un réseau de surveillance clinique a été défini au plan national l'année suivante, mobilisant les éleveurs, les vétérinaires, les laboratoires et les

services vétérinaires selon un schéma similaire à celui déjà mis en place pour les bovins et l'ESB. En 5 ans, ce réseau a permis de mettre en évidence la tremblante dans 339 élevages, dont la moitié était située dans les Pyrénées-Atlantiques. Cependant, faute de méthode appropriée, il n'y avait pas de distinction entre les différentes souches d'EST et tout cas confirmé était, de fait, considéré comme assimilé à un cas de tremblante.

À partir de 2002, un programme européen de surveillance active des EST des petits ruminants (règlement CE/999/2001 du 22 mai 2001 modifié) est venu compléter le dispositif de surveillance clinique, avec comme objectif principal de fournir une estimation moins biaisée de la prévalence grâce aux outils de diagnostic rapide dorénavant disponibles et de détecter, le cas échéant, la présence d'ESB.

## ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE ACTIVE

Le programme de surveillance active consiste en un échantillonnage d'ovins et de caprins adultes, abattus pour la consommation humaine d'une part, et collectés à l'équarrissage d'autre part.

En fonction des années et des espèces, les animaux prélevés sont sélectionnés par sondage aléatoire ou de façon systématique. Les objectifs de nombre d'échantillons à analyser sont fixés chaque année par la Direction générale de l'alimentation (DGAL), sur la base d'objectifs

minimaux fournis par la Commission européenne et en fonction d'une analyse actualisée du risque. En pratique, les seuils retenus en France ont toujours permis d'obtenir une précision de l'estimateur de la prévalence supérieure aux exigences européennes.

L'organisation générale du programme de surveillance active est illustrée dans la figure 1. Chaque échantillon, consistant en un prélèvement de tronc cérébral ciblant la région de l'obex, est envoyé au laboratoire départemental dont dépend le site de prélèvement. Chaque laboratoire met en œuvre les tests de diagnostic rapide qu'il a sélectionné parmi ceux agréés au niveau européen, cette liste ayant été révisée à plusieurs reprises. Les échantillons *non négatifs* à une EST sont acheminés vers le laboratoire national de référence (Afssa Lyon) pour confirmation et discrimination.

En complément du dépistage des EST, une proportion limitée (0,1 % à 3 % en fonction des années) des ovins prélevés fait l'objet d'un génotypage du gène PrP codant pour la protéine prion afin de surveiller l'évolution de la résistance génétique aux EST de la population ovine.

## DIAGNOSTIC DE SOUCHES

En octobre 2005, l'Agence européenne de sécurité sanitaire des aliments (AESA) a publié une classification des EST des petits ruminants fondée sur des critères phénotypiques, principalement biochimiques, et distinguant trois formes d'EST : l'ESB, la tremblante classique et la tremblante atypique [1].

### ESB

Le programme de surveillance active mis en place en France en 2002 prévoyait dès le début que les prélèvements positifs confirmés seraient soumis à une analyse discriminante afin de rechercher la présence d'ESB. Les méthodes diagnostiques permettant cette analyse discriminante (ELISA, Western Blot, Immunohistochimie) étaient alors en cours de développement dans différents centres de recherche européens. C'est donc dans un cadre expérimental que certaines de ces analyses ont été engagées dès 2002 par l'Afssa Lyon, aboutissant en particulier en 2005, après plus de trente mois d'analyses et d'expertises, à la confirmation d'un cas d'ESB sur une chèvre française née en 2000 et abattue en 2002.

Par ailleurs, après que les méthodes de discrimination aient été agréées au niveau européen en 2005, les prélèvements positifs confirmés avant cette date en France ont tous été étudiés rétrospectivement. Néanmoins, seul le premier cas de chaque foyer (cas index) a fait l'objet d'un test discriminant, de même qu'il en a été entre 2005 et 2007 pour les nouveaux cas détectés.

Aucun nouveau cas d'ESB n'a été démontré sur des petits ruminants en France jusqu'à présent. Toutefois, il est apparu que certains isolats d'EST, par exemple l'isolat CH1641, présentaient, dans le cadre des analyses discriminantes de première et seconde intention, un profil électrophorétique voisin (en terme de poids moléculaire apparent) mais pouvant être distingué de l'ESB (en terme de ratio de glycoforms). Difficilement caractérisables, ces isolats peuvent être à l'origine de suspicion d'ESB, et nécessitent alors d'avoir recours à la technique de référence pour déterminer s'il s'agit ou non d'ESB. Cette méthode de référence consiste à caractériser les isolats suspects par inoculation à la souris. Le délai de réponse est de l'ordre de deux ans. L'étude est habituellement prise en charge par le laboratoire communautaire de référence du VLA dans le Surrey (Grande-Bretagne), mais peut l'être parfois par l'Afssa Lyon lorsque la suspicion d'ESB est moins consensuelle.

### Tremblantes

Dès 2002 en France et en Allemagne, un certain nombre d'échantillons positifs ont présenté des résultats discordants en fonction des différents tests diagnostiques utilisés[2]. Une partie des échantillons *non négatifs* au test de première intention TeSeE® Bio Rad n'était jamais confirmée par le test de référence biochimique et, parfois, ne l'était pas par le test de référence immunohistochimique. A contrario, les échantillons *non négatifs* par le test Prionics® étaient très généralement confirmés par les tests de référence en vigueur (biochimie, immunohistochimie). Par la suite, de nombreux pays européens (Belgique, Irlande, Portugal, Royaume-Uni, Suisse) [1] ont rapporté l'identification de ces cas de tremblante désignés comme « atypiques ». Ces isolats de tremblante atypique présentaient des caractéristiques similaires aux isolats baptisés Nor98, identifiés dès 1998 en Norvège [3].

Les protocoles de confirmation ont depuis lors été adaptés et les cas atypiques peuvent aujourd'hui être confirmés sans difficulté par des techniques biochimiques. Par contre, il reste vrai que seuls certains des tests rapides agréés pour la recherche des EST (Bio-rad TeSeE, Bio-Rad TeSeE S/G et Idexx Herdcheck) s'avèrent capables de détecter la tremblante atypique dans les conditions de dépistage actuellement en place sur le terrain. Cette situation conduit à un fort biais dans la répartition spatiale des cas de tremblante atypique que seuls certains laboratoires départementaux, drainant les analyses de certains bassins de production, peuvent détecter.

Suite aux études engagées pour mieux décrire cette maladie, il est apparu que la tremblante atypique se distinguait également de la tremblante classique sur le plan de la physiopathologie et de l'épidémiologie (Avis du CES ESST de l'Afssa n°2006-SA-0195). Notamment, la protéine prion pathologique semble uniquement présente dans le système nerveux central et la contagiosité en élevage semble très limitée, si ce n'est absente. Ces caractéristiques contrastent avec celles, mieux connues, de la tremblante classique qui peut montrer une contagiosité marquée, en particulier lors des agnelages, liée à l'infectiosité des placentas. Le déterminisme génétique de la tremblante atypique est en outre différent de celui de la tremblante classique. Certains génotypes (AHQ, AFRQ) apparaissent particulièrement sensibles à la tremblante atypique, mais aucun génotype ne confère de réelle résistance à cette maladie. Ainsi, en particulier, les animaux génétiquement résistants à la tremblante classique (porteurs d'allèles ARR) peuvent être atteints de tremblante atypique [4].

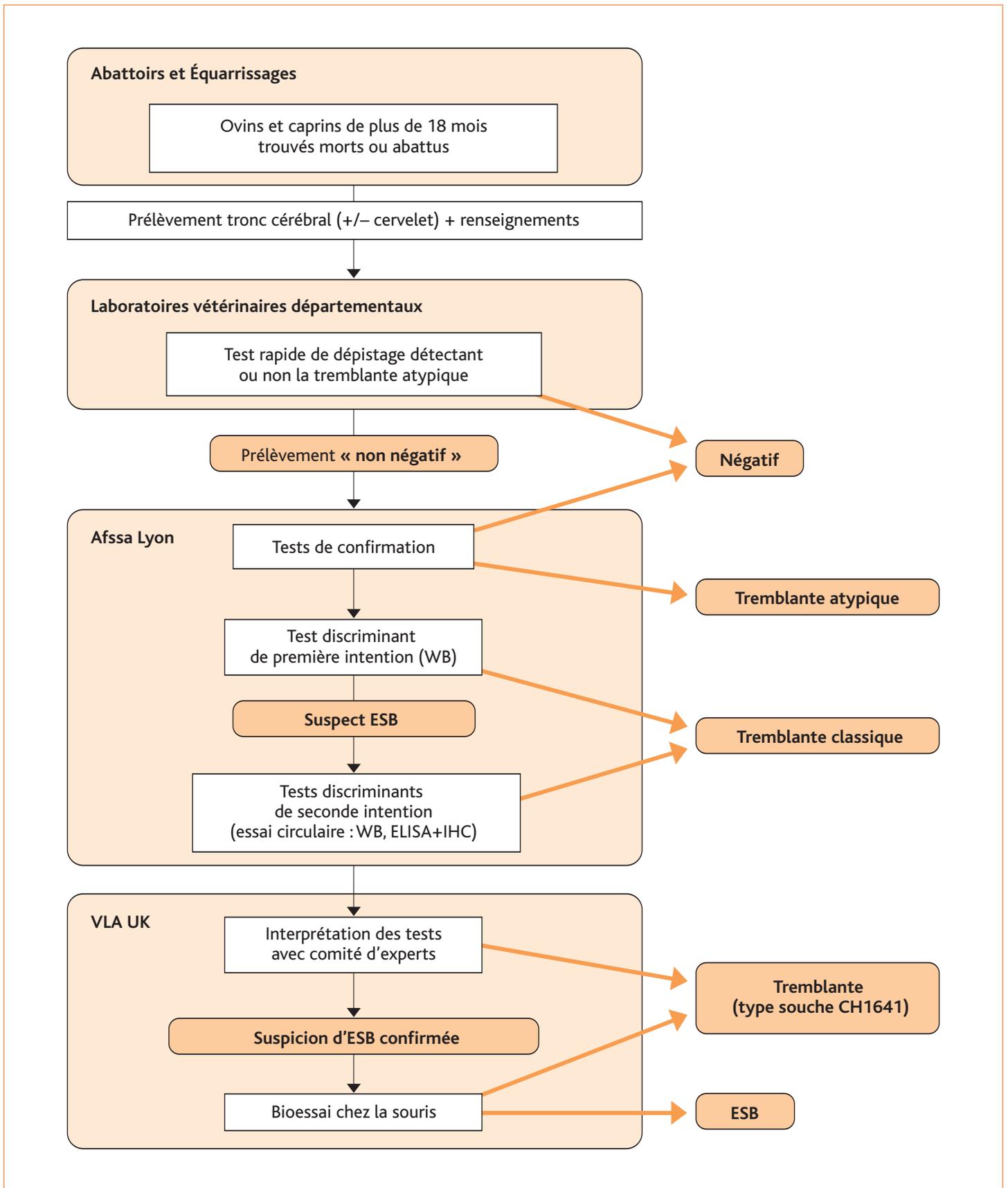
## ESTIMATION DE LA PRÉVALENCE DES EST

L'analyse des résultats du programme de surveillance consiste en une analyse descriptive, prenant en compte la nature et la qualité des données recueillies. Un rendu détaillé est disponible sur le site Internet de l'Afssa (<http://www.afssa.fr/>), dans l'avis n° 2007-SA-0052 du 20 juillet 2007 et ses annexes.

### ESB

À ce jour un seul cas d'EST non distinguable de l'ESB à l'issue des essais sur souris, et donc considéré comme de l'ESB, a été mis en évidence sur une chèvre française par le programme de surveillance. Il est à noter que la nouvelle du résultat du test biologique, publiée en avril 2005, a entraîné une forte intensification de la surveillance des EST chez les caprins à partir de cette date.

Quatre autres prélèvements, collectés entre décembre 2005 et avril 2006 sur des ovins (de génotype ARQ/ARQ), ont présenté des caractéristiques biochimiques suspectes, sans toutefois être complètement similaires à l'ESB. La notification de ces cas, avant même l'obtention des résultats des tests biologiques (qui sont toujours en cours) a conduit à une intensification de la surveillance chez les ovins à partir du début de l'année 2006.



**Figure 1** : Schéma du dispositif de surveillance et de diagnostic des EST des petits ruminants

Sur la base des résultats de la surveillance et en tenant compte de ces cas, la prévalence de l'ESB chez les petits ruminants a été récemment précisée. Sa valeur *la plus probable* serait de 0 chez les ovins et chez les caprins à l'équarrissage ; elle serait de 4 cas par million chez les caprins à l'abattoir, compte tenu du cas identifié. En se plaçant dans les conditions les plus défavorables (c'est-à-dire en tenant compte d'une sensibilité imparfaite du programme de surveillance, fixée de

façon consensuelle à 50 %, et en considérant la borne supérieure de l'intervalle de confiance de la prévalence), elle serait *au maximum* de 16 et 20 cas par million d'animaux testés respectivement pour les ovins à l'abattoir et à l'équarrissage, et de 30 et 34 cas par million d'animaux testés respectivement pour les caprins à l'abattoir et à l'équarrissage. Il est donc établi que la prévalence de l'ESB chez les petits ruminants est aujourd'hui très faible.

## Tremblantes

Les résultats synthétiques de la surveillance active chez les ovins et les caprins entre 2002 et 2006 sont présentés dans le tableau 1. Globalement les deux formes de maladies sont rares avec des prévalences pour l'année 2006, n'excédant pas 7,4 cas index pour 10 000 tests chez les ovins et 1,5 cas index pour 10 000 tests chez les caprins. En raison des biais de sélection et de certaines données manquantes, l'interprétation de ces prévalences doit toutefois être prudente.

Chez les ovins, la prévalence de la tremblante classique est supérieure à l'équarrissage par rapport à l'abattoir d'environ un facteur 10, ce qui est conforme aux connaissances sur la maladie. En revanche, il apparaît que la prévalence de la tremblante atypique est similaire dans les deux sites. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les animaux atteints de tremblante atypique manifestent plus tardivement la maladie, à un âge proche de leur réforme économique. Par ailleurs, la prévalence de la tremblante classique semble diminuer régulièrement entre 2002 et 2006, à l'abattoir comme à l'équarrissage. Cette baisse pourrait être due aux progrès des programmes de sélection génétique en faveur de la résistance à la tremblante (cependant, on n'observe pour l'instant aucune évolution statistiquement significative des fréquences alléliques dans les échantillons de la population générale prélevés chaque année à cette fin), mais aussi aux effets de la police sanitaire, ou encore aux effets d'autres mesures de contrôle, notamment sur l'alimentation animale. L'interdiction totale d'utilisation des farines animales dans l'alimentation des animaux de rente depuis 2001 dans l'Union européenne a en effet mis un terme à toute possibilité de contamination directe ou indirecte des aliments des ruminants, ovins et caprins y compris.

Chez les caprins, les deux formes de tremblante sont plus rares que chez les ovins. Les prévalences sont supérieures à l'équarrissage par rapport à l'abattoir mais ces maladies semblent plus sporadiques, sans évolution particulière des prévalences au cours du temps.

## SURVEILLANCE ET POLICE SANITAIRE

L'objectif premier de la surveillance des EST chez les ovins et les caprins n'est pas de lutter contre ces maladies, les plans de sondage n'ayant pas été conçus pour dépister le plus grand nombre d'animaux atteints mais pour estimer la prévalence dans les différentes populations. Cependant, elle a conduit à mettre en évidence un nombre important d'élevages atteints, 945 foyers entre 1996 et 2006, et constitue l'unique porte d'entrée des mesures de police sanitaire dans les cheptels atteints.

Les premières mesures officielles de contrôle de la tremblante prises en 1997 consistaient principalement en une surveillance des animaux issus des élevages infectés, accompagnée de l'élimination des suspects cliniques ou de certaines cohortes de naissance. Les restrictions de mouvement, limitées, ont pu contribuer à diminuer la diffusion de la maladie. Cependant ces mesures ne permettaient ni un assainissement efficace du troupeau, ni un arrêt total de la diffusion à partir des foyers.

Lorsque les connaissances sur le déterminisme génétique de la tremblante classique chez les ovins se sont précisées, les mesures de lutte ont pu être adaptées. Les arrêtés du 15 mars 2002, puis du 27 janvier 2003, ont ainsi pris en compte d'une part la susceptibilité génétique chez les ovins pour définir l'élimination des animaux génétiquement sensibles et le renouvellement par des animaux résistants, et, d'autre part, le risque accru de transmission lors des agnelages pour limiter les mesures de restriction aux élevages de naissance et aux élevages de mise bas des cas positifs. En revanche, en l'absence de susceptibilité génétique connue chez les caprins, l'abattage total s'est imposé comme la seule alternative légale. Des protocoles expérimentaux reposant sur un dépistage à partir de

biopsies d'amygdale accompagné d'une période de surveillance ont toutefois été mis en œuvre dans quelques élevages.

Ces mesures, définies en 2003, alors que les moyens de faire la distinction entre les différentes souches d'EST n'étaient pas disponibles, apparaissent aujourd'hui partiellement obsolètes. En effet, ces mesures étaient adaptées à la tremblante classique et ont fait la preuve de leur efficacité. Elles sont en revanche incohérentes dans le cas de la tremblante atypique compte tenu des spécificités, notamment génétiques, de la maladie. De nouvelles mesures devraient être bientôt définies, en cohérence avec les connaissances scientifiques récemment acquises, et en conformité avec la réglementation communautaire récemment révisée.

## CONCLUSION

En matière d'EST chez les petits ruminants, la surveillance a été fortement influencée par l'évolution des connaissances et l'analyse des risques. D'un programme de surveillance clinique portant sur une seule maladie à prion indifférenciée, considérée comme de la tremblante, nous sommes passés en quelques années à un programme de surveillance active, parfois intensif, portant sur trois maladies distinctes : la tremblante classique, la tremblante atypique et l'ESB.

Malgré les difficultés de mise en œuvre et d'interprétation qui en ont suivi, il convient de souligner que la surveillance des EST chez les petits ruminants a répondu à ses objectifs de départ. Elle a permis (i) d'estimer précisément la prévalence de la tremblante et d'en suivre l'évolution (ii) d'établir que la prévalence de l'ESB chez les petits ruminants est très faible.

Ces programmes ont en outre contribué, par les mesures de police sanitaire qu'ils déclenchent, à amorcer un assainissement du cheptel français contre la tremblante classique, en complément des mesures génétiques, visant à renforcer la résistance générale de la population ovine à la tremblante classique et à l'ESB, mises en œuvre depuis plusieurs années en France.

Dans les années à venir, l'évolution de la surveillance et du contrôle des EST des petits ruminants continuera de se faire à l'aune d'une analyse régulièrement renouvelée du risque que ces maladies peuvent représenter pour la santé publique et la santé animale. Les résultats rassurants en matière d'ESB, et l'image claire de la situation française en matière de tremblante classique et atypique, obtenus grâce aux programmes de surveillance intensifs réalisés ces dernières années devraient en particulier fonder rapidement une révision de la surveillance active vers un programme allégé mais pérennisé.

## RÉFÉRENCES

- [1] (EFSA) EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on classification of atypical Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) cases in Small Ruminants. The EFSA Journal 2005, 276:1-30.
- [2] Buschmann A, Biacabe A-G, Ziegler U, Bencsik A, Madec J-Y, Erhardt G, Lühken G, Baron T, Groschup MH: Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. Journal of Virological Methods 2004, 117:27-36.
- [3] Benestad SL, Sarradin P, Thu B, Schônheit J, Tranulis MA, Bratberg B: Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type Nor98. The Veterinary Record 2003, 153:202-208.
- [4] Moreno CR, Moazami-Goudarzi K, Laurent P, Cazeau G, Andreoletti O, Chadi S, Elsen JM, Calavas D: Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie? 2007, 152:1229-1232.

**Tableau 1** : Résultats synthétiques de la surveillance active des EST des petits ruminants de 2002 à 2006. TC : Tremblante classique, TA : Tremblante atypique, IC95 % : Intervalle de confiance à 95 %, prévalences exprimées en cas pour 10 000 animaux testés.

| Espèce  | Plan         | Année | Tests<br>(dont Bio-rad<br>ou Idexx) | Cas<br>index<br>TC | Prévalence<br>TC | IC95 % TC   | Cas<br>index<br>TA | Prévalence<br>TA | IC95 % TA  |  |
|---------|--------------|-------|-------------------------------------|--------------------|------------------|-------------|--------------------|------------------|------------|--|
| Ovins   | Abattoir     | 2002  | 33663 (14627)                       | 16                 | 4,8              | [2,7-7,8]   | 11                 | 7,5              | [3,8-13,4] |  |
|         |              | 2003  | 44267 (25477)                       | 19                 | 4,3              | [2,5-6,6]   | 22                 | 8,6              | [5,4-13,1] |  |
|         |              | 2004  | 12377 (8366)                        | 6                  | 4,8              | [2,0-10,8]  | 4                  | 4,8              | [1,3-12,2] |  |
|         |              | 2005  | 12170 (7544)                        | 3                  | 2,5              | [0,6-7,2]   | 8                  | 10,6             | [4,6-20,9] |  |
|         |              | 2006  | 263181 (195942)                     | 21                 | 0,8              | [0,0-2,0]   | 107                | 5,5              | [4,5-6,6]  |  |
|         | Équarrissage | 2002  | 17323 (3839)                        | 104                | 60,0             | [49,2-72,5] | 4                  | 10,4             | [2,8-26,6] |  |
|         |              | 2003  | 18864 (5611)                        | 24                 | 12,7             | [8,5-18,9]  | 7                  | 12,5             | [5,0-25,6] |  |
|         |              | 2004  | 12228 (5183)                        | 19                 | 15,5             | [9,7-24,2]  | 2                  | 3,9              | [0,0-13,9] |  |
|         |              | 2005  | 22073 (7980)                        | 29                 | 13,1             | [8,9-19,1]  | 5                  | 6,3              | [2,0-14,6] |  |
|         |              | 2006  | 228465 (110872)                     | 161                | 7,0              | [5,4-8,2]   | 82                 | 7,4              | [5,9-9,2]  |  |
| Caprins | Abattoir     | 2002  | 14858 (1646)                        | 1                  | 0,7              | [0,0-3,8]   | 0                  | 0,0              | [0,0-22,4] |  |
|         |              | 2003  | 11200 (2200)                        | 2                  | 1,8              | [0,0-6,5]   | 0                  | 0,0              | [0,0-16,8] |  |
|         |              | 2004  |                                     |                    | Pas de tests     |             |                    |                  |            |  |
|         |              | 2005  | 100463 (16401)                      | 0                  | 0,0              | [0,0-1,2]   | 2                  | 1,2              | [0,1-4,4]  |  |
|         |              | 2006  | 112983 (18399)                      | 0                  | 0,0              | [0,0-1,2]   | 0                  | 0,0              | [0,0-2,0]  |  |
|         | Équarrissage | 2002  | 12214 (1568)                        | 8                  | 6,5              | [2,6-12,8]  | 1                  | 6,4              | [0,2-35,5] |  |
|         |              | 2003  | 11952 (3495)                        | 3                  | 2,5              | [0,6-7,2]   | 2                  | 5,7              | [0,7-20,6] |  |
|         |              | 2004  | 5654 (3382)                         | 1                  | 1,8              | [0,0-9,7]   | 0                  | 0,0              | [0,0-10,9] |  |
|         |              | 2005  | 47860 (26846)                       | 8                  | 1,7              | [0,6-4,0]   | 4                  | 1,5              | [0,4-3,8]  |  |
|         |              | 2006  | 52611 (30612)                       | 8                  | 1,5              | [0,6-3,9]   | 1                  | 0,3              | [0,0-1,8]  |  |