Bulletin épidémiologique

Santé animale - alimentation

Septembre 2014 trimestriel/numéro 63

Page 2
Apport de la biologie moléculaire pour la connaissance de la fièvre charbonneuse en France

Page 6
Fièvre charbonneuse en 2013 : un foyer en Haute-Marne rappelle que cette zoonose est toujours d'actualité en France

Page 10
Réseau national de surveillance des virus influenza chez le porc (Résavip) – Résultats des trois premières années de fonctionnement

Page 15
Situation épidémiologique actuelle de la diarrhée épidémique porcine dans le monde et caractéristiques physiopathologiques de la maladie

Page 19 - Brève
Peste Porcine Africaine : étude sérologique dans les abattoirs en Corse durant l'hiver 2014

Page 20
Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *Bacillus cereus* producteurs d'entérotoxines

Page 24
Prévalence, facteurs associés et répartition spatiale de la cysticercose bovine en France en 2010 et perspectives en termes de surveillance épidémiologique

Page 28 - Brève
Fièvre aphteuse en Tunisie

Page 30
Développement d'une veille sanitaire internationale en santé animale dans le cadre de la Plateforme ESA

Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la Direction générale de l'alimentation du ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt.

ÉDITORIAL

Dans ce numéro du *BE*, trois articles mettent en lumière les apports de la biologie moléculaire à l'épidémiologie. L'étude d'un panel de souches de *Bacillus anthracis* récoltées dans le cadre de la surveillance de la fièvre charbonneuse en France depuis soixante ans a permis de produire une cartographie instructive de la distribution spatiale des différents génotypes, contribuant de manière majeure à la connaissance de l'épidémiologie de cette maladie en France. La disponibilité d'outils de typage moléculaire est centrale dans l'investigation de phénomènes épidémiologiques en santé ou en hygiène alimentaire, comme l'illustrent respectivement l'article sur l'investigation de cas de fièvre charbonneuse en Haute-Marne et l'article sur une investigation de TIAC à *Bacillus cereus* dans une crèche.

Deux articles décrivent les résultats de dispositifs de surveillance faisant partie du programme d'activité de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) : les résultats du réseau de surveillance Résavip, en place depuis trois ans, qui permet d'analyser la diversité des virus influenza A circulant chez le porc en France ; et les résultats d'une étude transversale chez les porcs abattus en Corse qui permet de démontrer l'absence de circulation de la peste porcine africaine dans l'île.

Un article et une brève s'inscrivent quant à eux dans l'activité de la cellule de veille internationale de la Plateforme ESA, présentée en fin de numéro.

L'article fait la synthèse des connaissances vis-à-vis de la diarrhée épidémique porcine qui sévit actuellement en Amérique et en Asie, pour ce qui est de l'épidémiologie et de la physiopathologie. Ces informations ont été prises en compte pour définir le programme de vigilance épidémiologique qui a été mis en place à l'initiative de la DGAL.

Une brève fait un point de la situation, fin juillet, de la fièvre aphteuse en Tunisie. L'épidémiologie très évolutive de cette maladie dans le Maghreb fait l'objet d'une attention toute particulière en termes de veille, une veille qui contribue à la mise en place de mesures de prévention dans notre pays, adaptées à l'évolution du risque dans cette zone.

Enfin, un article fait la synthèse de trois études sur l'épidémiologie de la cysticercose bovine, menées à partir d'une enquête pilotée par la DGAL. Elles permettent de fournir des informations fiables en matière de prévalence, de facteurs associés et de distribution spatiale de cette affection, et ouvrent la voie à une surveillance et une gestion basées sur le risque.

Le comité de rédaction

Apport de la biologie moléculaire pour la connaissance de la fièvre charbonneuse en France

Guillaume Girault (1), Sylviane Derzelle (1) (sylviane.derzelle@anses.fr)
(1) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Unité Zoonoses bactériennes, Maisons-Alfort, France

Résumé
Zoonose sporadique en France, la fièvre charbonneuse (FC) n'en reste pas moins présente sur le territoire français. Au cours de la dernière décennie (2001-2013), soixante-neuf foyers animaux de FC ont été recensés. Le nombre de foyers déclarés chaque année est extrêmement variable, allant d'années exemptes (2012) à des années propices à la résurgence de cas de FC (19 foyers en 2008 ou 22 foyers en 2009). Aujourd'hui, le diagnostic des cas de FC se limite à la détection et à la confirmation de l'espèce de l'agent causal, *Bacillus anthracis*. *B. anthracis* est une espèce bactérienne très monomorphe, présentant peu de variabilité d'un point de vue génétique. Seules certaines techniques de biologie moléculaire à haut pouvoir résolutif permettent une discrimination des souches entre elles. Afin de mieux connaître la diversité des souches de *B. anthracis* présentes en France et les relations phylogénétiques qu'entretiennent ces souches entre elles, une analyse génomique ambitieuse a été menée au sein du laboratoire national de référence, à l'Anses. Le séquençage à haut débit de 125 génomes de *B. anthracis* collectés en France depuis soixante ans a été réalisé. Cette étude a permis l'obtention d'une cartographie extrêmement précise des génotypes de *B. anthracis* présents sur le territoire. Au cours de ce travail, l'identification d'un grand nombre de marqueurs diagnostiques de type SNP (polymorphisme de séquence unique) permettra à l'avenir une caractérisation fine de cet agent pathogène important, ainsi qu'une surveillance adéquate de cette zoonose grave lors des foyers de FC.

Mots-clés
***Bacillus anthracis*, France, polymorphismes de séquence uniques (SNP), génotypage**

Abstract
Contribution of molecular biology to knowledge of anthrax in France
Although anthrax is a sporadic zoonosis in France, it nevertheless is still found in the country. Over the last twelve years (2001-2013), 69 anthrax outbreaks have been reported in animals. The number of outbreaks declared each year is extremely variable, certain years being entirely free of cases (2012, for example) and others showing a resurgence of the disease (19 outbreaks in 2008 and 22 outbreaks in 2009, for example). Today, diagnosis of anthrax is limited to the detection and confirmation of the causative agent of the disease,* Bacilus anthracis*, which is a monomorphic bacterial species with very low genetic variability. Only a few high-resolution typing methods are able to discriminate between strains. To increase knowledge of the diversity of* B. anthracis *strains in France and of the phylogenetic relationships that they share, an ambitious genomic analysis campaign has been conducted at the ANSES National Reference Laboratory for anthrax. This included the high-throughput DNA sequencing of 125* B. anthracis *genomes isolated in France over a 60-year period. This study provided an extremely precise picture of the distribution of the* B. anthracis *genotypes found in France. Within this framework, the identification of a diagnostic marker pattern (Single Nucleotide Polymorphisms) will provide accurate characterization of this important pathogen, including appropriate surveillance during anthrax outbreaks.

Keywords
Bacillus anthracis*, France, Single Nucleotide Polymorphisms, Genotyping*

La fièvre charbonneuse (FC) (ou charbon bactéridien) est une zoonose grave de répartition mondiale causée par une bactérie sporulée « tellurique », *Bacillus anthracis* (OIE, 2008) (Encadré 1). Outre sa capacité de sporulation, *B. anthracis* possède plusieurs facteurs de virulence codés par des gènes situés sur ses deux plasmides (pXO1 et pXO2) : une capsule aux propriétés anti-phagocytaires et deux exotoxines de type A-B, le facteur Oedématogène (EF) et le Facteur Létal (LF), partageant un même facteur assurant la translocation à travers les membranes cellulaires vers le cytosol des deux autres facteurs, le facteur PA (Protective Antigen) (OIE, 2008).

L'infection d'un hôte peut avoir lieu par inhalation, ingestion ou contamination cutanée par le biais d'une plaie ou d'une piqûre d'insecte. La forme respiratoire est la plus fulgurante. Après pénétration des spores dans le système respiratoire de l'hôte, elles germent en présence de CO_2. Les bacilles vont ensuite synthétiser leur capsule, se multiplier rapidement et libérer leurs toxines. Bactéries et toxines finissent par se disséminer dans la circulation sanguine et provoquent la mort par septicémie et choc exotoxinique. Les animaux les plus exposés sont les herbivores (bovins, ovins, caprins, équins), et plus particulièrement les ruminants qui contractent généralement la maladie en ingérant des spores au cours de leur pâture (ingestion d'herbe ou de terre contaminée). En France, les cas humains sont excessivement rares. Pour les éleveurs et les personnes en contact avec les animaux, le principal risque réside dans la contraction d'un charbon cutané suite à la manipulation sans précaution d'animaux malades ou morts.

Encadré 1. Fièvre charbonneuse

Classée dans la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), la fièvre charbonneuse fait partie en France des dangers sanitaires de catégorie 1 en médecine vétérinaire (articles L. 223-2 et suivants, et D. 223-2 du Code rural) qui donnent lieu à l'application de mesures de police sanitaire. C'est également une maladie à déclaration obligatoire en médecine humaine depuis 2001. Elle est reconnue comme maladie professionnelle (éleveurs, vétérinaires, microbiologistes…). Il s'agit d'une maladie potentiellement mortelle qui touche tous les mammifères, y compris l'Homme. Les herbivores (bovins, ovins, caprins, équins) sont les plus sensibles. Ils contractent généralement la maladie en ingérant des spores au cours de leur pâture (ingestion d'herbe ou de terre contaminées) et développent le plus souvent des formes suraiguës ou aiguës de la maladie. Chez l'Homme, le contact d'animaux infectés, l'ingestion d'aliments contaminés ou la respiration de poussières contenant des spores peuvent être responsables de la maladie. Les formes cutanées, suites à des piqûres, des coupures ou des éraflures, sont majoritaires (95 % des cas) et le plus souvent bénignes.

Encadré 2. Définition des cas et des foyers animaux

Un cas confirmé de FC correspond à un animal dont un prélèvement a permis l'isolement de *B. anthracis*. Un cas présumé de FC correspond à un animal dont la mort a été imputée à la FC, sans confirmation par une analyse biologique. Enfin, un foyer correspond à un lot d'animaux dans lequel au moins un cas de FC a été observé.

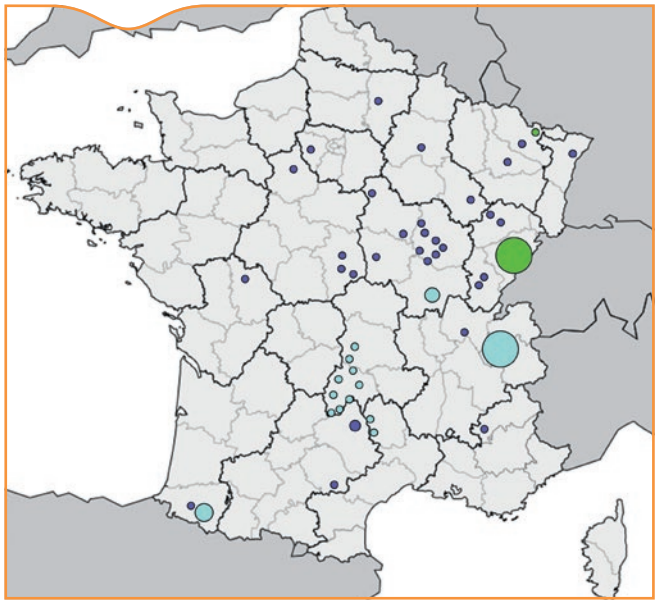

Figure 1. Répartition des foyers de FC en France et des sous-lignées associées (1953-2013)
La figure représente la répartition géographique des foyers de FC observés en France depuis soixante ans. Les trois sous-lignées présentes à l'état naturel sont représentées selon le code couleur suivant : la sous-lignée Transeurasienne A.Br.011/009 en violet, la sous-lignée majoritaire B.Br.Cneva en bleu ciel et enfin, la sous-lignée minoritaire A.Br.001/002 en vert. La taille des cercles est proportionnelle au nombre de souches qu'ils représentent.

Aujourd'hui, en France, cette zoonose est observée de manière assez sporadique chez les animaux. Au cours de la dernière décennie (2001-2013), soixante-neuf foyers animaux de FC ont été recensés (Encadré 2). Leur nombre est extrêmement variable d'une année sur l'autre, avec des années sans foyer confirmé (comme 2010 et 2012) et des années plus marquées (2008 et 2009). Les épisodes de FC sont généralement de faible importance avec un ou deux foyers et un ou deux animaux morts par foyer. Cependant, il n'est pas exceptionnel que des épisodes plus conséquents se produisent. Ainsi, en 2009, un taux record de vingt-deux foyers répartis dans cinq départements a été observé. En tout, cinquante-trois bovins, quinze caprins et deux chevaux sont morts (Fediaevsky *et al.*, 2009). En 2008, un épisode de dix-sept foyers se déclarant concomitamment sur plusieurs communes proches a été rapporté dans le Doubs. Au total, trente-neuf bovins sont morts et quatre-vingt-onze autres ont été traités par antibiotiques. Une vaste opération de vaccination de près de 12 000 bovins a été entreprise sur quinze communes (Calavas *et al.*, 2008). La répartition des cas de FC concerne quasiment tout le territoire français, à l'exception de certaines régions, comme la Bretagne (Figure 1). La grande majorité des foyers s'observe cependant dans les départements français ayant un lourd passé charbonneux, essentiellement dans le Massif Central, les Alpes, la Bourgogne et la Franche-Comté (Madani *et al.*, 2009 ; Vaissaire *et al.*, 2001). En effet, les spores de *B. anthracis* peuvent persister dans le sol pendant de longues périodes (demi-vie pouvant aller jusqu'à 100 ans), assurant de ce fait la pérennité de l'espèce.

Bacillus anthracis, un pathogène clonal

L'agent causal de la FC est considéré comme une espèce bactérienne relativement jeune sur le plan évolutif, ayant émergé de l'espèce *Bacillus cereus* suite à l'acquisition de deux plasmides de virulence (Keim and Wagner, 2009). D'un point de vue génétique, *B. anthracis* est l'une des bactéries les plus homogènes qui soient. C'est une espèce clonale dont il est difficile, voire impossible, de différencier les souches entre-elles au moyen de méthodes de typage classiques (biochimique, bactériologie/phénotypique, séquençage de l'ARNr 16S ou 23S). Cette homogénéité inter-souches exceptionnelle est le résultat d'un cycle de vie particulier. *B. anthracis* passe la majorité de sa vie sous forme de spores dormantes dans le sol. Des décennies peuvent se passer entre deux cycles infectieux. Durant cette phase, l'organisme est peu exposé aux modifications et variations que subit en continu le matériel génétique (liées à la présence de phages, à la réplication de l'ADN). L'évolution du génome est ainsi statique ou du moins grandement réduite.

La biologie moléculaire au service du typage

Acquérir la capacité de distinguer suffisamment de différences entre deux souches est très important pour déterminer avec certitude qu'une souche particulière est à l'origine d'un foyer de FC ou d'un cas humain. Le défi majeur pour développer une méthode de typage de haute résolution pour une espèce bactérienne clonale comme *B. anthracis* réside en l'identification de caractères ou d'une combinaison de caractères uniques à chaque souche.

Depuis les années 2000, plusieurs méthodes existent pour différencier les souches de *B. anthracis* entre elles : certaines sont basées sur les séquences répétées présentes dans le génome (Multiple Locus Variable number of tandem repeats Analysis : MLVA) (Derzelle *et al.*, 2011 ; Keim *et al.*, 2000) et d'autres sur un petit nombre de mutations ponctuelles de type Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) réparties le long du génome (Girault *et al.*, 2014a ; Van Ert *et al.*, 2007) (Encadré 3). Les polymorphismes nucléotidiques de type SNP sont des mutations extrêmement stables d'un point de vue évolutif, ce qui en fait des marqueurs de choix pour le génotypage. Un nombre limité de 13 à 14 SNP dits « canoniques » permet de déterminer précisément la position phylogénétique de tout isolat au sein des groupes et lignées majeures de *B. anthracis* retrouvées de par le monde (Marston *et al.*, 2011 ; Van Ert *et al.*, 2007). Il existe trois lignées majeures (A, B et C) et douze sous-groupes phylogénétiques au sein de l'espèce *B. anthracis*. La branche A présente une dispersion globale assez étendue et est la plus diversifiée. La majorité des isolats actuels se positionne dans cette lignée. La branche B ne représenterait qu'environ 15 % des cas mondiaux de FC récents. Sa distribution géographique se limite principalement à l'Afrique du Sud et à une partie de l'Europe dont la France. La lignée C est quant à elle plus anecdotique (seulement quelques isolats de laboratoire).

Ces approches (MLVA et analyse de canSNP (un set d'une dizaine de SNP phylogénétiquement informatifs) ont cependant un pouvoir résolutif quelque peu limité. Aucune n'a le pouvoir résolutif du séquençage complet de génomes. Avec l'accessibilité des nouvelles technologies de séquençage à haut débit (plateformes, diminution des coûts), les approches basées sur l'analyse de génomes complets prennent une part nouvelle et de plus en plus importante dans le génotypage des bactéries. Afin de mieux connaître la diversité existante en France au sein de l'espèce ainsi que la distribution naturelle des souches à travers le pays, le séquençage global de 125 souches « indigènes » de *B. anthracis* issues de la collection du Laboratoire national de référence pour la FC,

Encadré 3. Qu'est ce qu'un SNP ?

Le polymorphisme nucléotidique ou polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) est, en génétique, la variation d'une seule paire de bases du génome, entre individus d'une même espèce (exemple représenté ci-dessous, avec un SNP différenciant la souche Ames Ancestor de la souche Sterne). Ces variations sont très fréquentes chez tous les organismes vivants.

Les SNP sont générés par des erreurs de réplication de l'ADN non réparées par la suite, qui prennent place dans le génome à une très faible fréquence (10^{-10} changement par nucléotide et par génération pour *B. anthracis*). Les SNP sont des marqueurs diagnostiques importants, car ils sont stables d'un point de vue évolutif et présentent une probabilité faible de rétroversion.

Ames Ancestor	**G T T G T T G**
Sterne	**G T T A T T G**

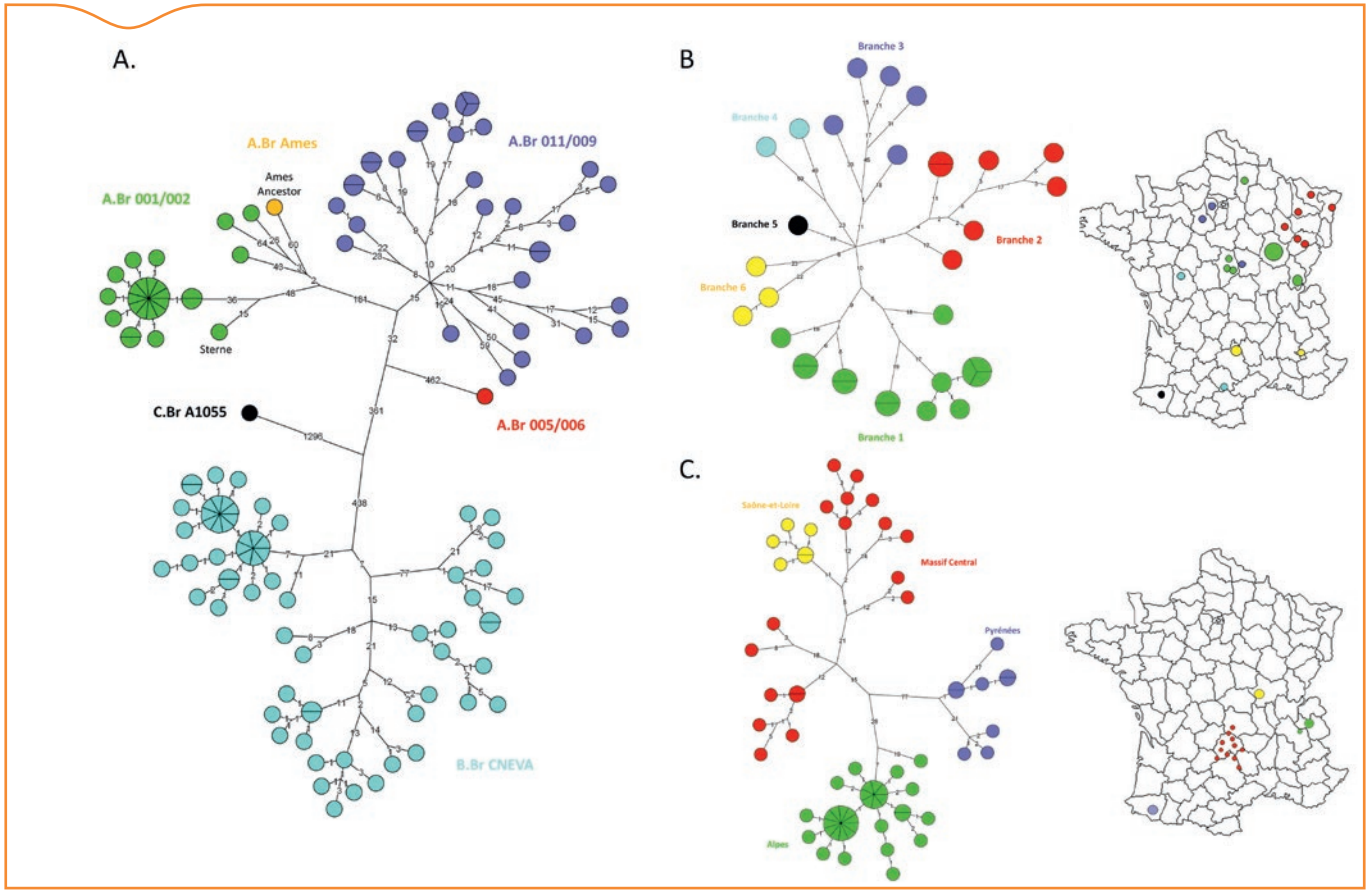

Figure 2. Cartographie à haute résolution de *B. anthracis* en France

A. Le Minimum Spanning Tree (MST) représenté ici a été obtenu à partir de l'analyse des SNP sur génome complet des souches de la collection du LNR Charbon séquencées (125 souches) ainsi que de trois souches disponibles dans les bases de données génomiques (Ames Ancestor, Sterne et A1055). Une des souches de la collection LNR est une souche d'origine africaine (A.Br.005/006). Cet arbre phylogénétique a été obtenu à partir de 4 018 SNP chromosomiques. Les sous-lignées sont représentées selon le code couleur suivant : A.Br.Ames en jaune, A.Br.001/002 en vert, A.Br.005/006 en rouge, A.Br.011/009 en violet, B.Br.Cneva en bleu ciel et C.Br.A1055 en noir.

B. Représentation de la sous-lignée A.Br.011/009 en France. Le MST représente les six branches retrouvées en France. La carte de France représente leurs localisations géographiques.

C. Représentation de la sous-lignée B.Br.Cneva en France. Le MST représente les trois grands groupes (Alpes, Pyrénées, Massif central) ainsi que le sous-groupe Saône-et-Loire. La carte de France représente leurs localisations géographiques.

à l'Anses, a été entrepris. La production de données génomiques a permis d'acquérir une somme considérable d'informations sur les souches de *B. anthracis* présentes dans les différentes régions de France. La connaissance exhaustive du polymorphisme existant au sein des séquences génomiques de ces souches a également permis de mettre en évidence des milliers de signatures ADN de type SNP uniques aux souches retrouvées en France. Près de 4 000 SNP ont été identifiés, ce qui a permis l'obtention d'une cartographie à très haute résolution de la FC sur le territoire français (Figure 2A). La résolution obtenue est telle que l'on peut différencier presque toutes les souches sur la base de ce jeu de SNP spécifiques.

Distribution des génotypes de *B. anthracis* à l'échelle française

L'ensemble des isolats français se positionne au sein de trois des douze grandes sous-lignées phylogénétiques décrites dans le monde. Il s'agit des branches A.Br.001/002, A.Br.011/009 (lignée Transeurasienne) et B.Br.Cneva (Figure 1). La sous-lignée minoritaire A.Br.001/002 (16 % des souches) est exclusivement retrouvée dans le Nord-Est de la France. Elle est impliquée dans l'épisode de l'été 2008 du Doubs. La branche A.Br.011/009 (30 %) est à l'origine de nombreux cas sporadiques de FC dans différentes régions du territoire. La branche majoritaire B.Br.Cneva (54 %) compte près de la moitié des isolats de la collection de l'Anses. Les foyers qui lui sont attribués se localisent principalement dans la moitié Sud du pays, près des grands massifs montagneux (Alpes, Pyrénées, Massif Central). Elle est notamment impliquée dans l'épisode de l'été 2009 en Savoie.

Un regroupement géographique en trois ou quatre grands sous-groupes est obtenu pour la lignée B.Br.Cneva. Les souches isolées dans les Alpes sont toutes apparentées et se distinguent clairement des souches pyrénéennes ou de celles du Massif central. Un sous-ensemble incluant les souches isolées en Saône et Loire se détache au sein de l'ensemble Massif Central (Figure 2C). Un regroupement géographique moins apparent en six sous-branches phylogénétiques est également observé pour les souches appartenant de la lignée Transeurasienne A.Br.011/009 dispersées à travers le territoire (Figure 2B). Les branches 1 et 2 regroupent des souches isolées dans un quart Nord-Est de la France. La branche 3 comprend des souches vaccinales de type Pasteur II ou Carbosap et quelques isolats collectés dans des départements proches de Paris. Les rares souches des branches 4, 5 et 6 sont issues, respectivement, de l'Ouest ou du Sud de la France, des Pyrénées, et du quart Sud-Est.

Développement d'un outil de typage par PCR

Parmi le jeu de plus de quatre mille mutations ponctuelles identifiées par séquençage, douze SNP canoniques représentatifs des sous-groupes génétiques et géographiques majeurs mis en évidence ont été sélectionnés pour développer un outil de typage moléculaire par réaction de polymérase en chaîne (PCR) permettant la discrimination des isolats français.

Parmi les différentes méthodes existantes pour cribler des SNP, une technique post-PCR peu onéreuse, ne nécessitant pas l'achat de sondes

nucléotidiques marquées spécifiques à chacun des allèles de SNP à discriminer, a été choisie. Il s'agit de la PCR-HRM (High Resolution Melting) dont le principe est d'analyser les amplicons obtenus par PCR au moyen d'une courbe de fusion de grande précision. Après une étape de PCR en temps réel classique réalisée avec un intercalant fluorescent, une montée progressive en température permet de séparer deux populations d'amplicons courts de température de fusion différente, ne différant que par une seule base nucléotidique.

Douze marqueurs représentatifs des sous-groupes phylogénétiques présents en France ont ainsi été validés *in silico* et *in vitro* (Girault *et al.*, 2014a ; Girault *et al.*, 2014b). Ils permettent d'affiner le typage des souches et confirmer l'origine (géographique) locale des souches isolées lors de foyers.

Analyse rétrospective des récents épisodes majeurs de FC

La France a récemment connu deux épisodes importants de FC : en 2008 dans le Doubs et en 2009 en Savoie (Calavas *et al.*, 2008 ; Madani *et al.*, 2009). Les souches impliquées dans ces épisodes appartiennent aux lignées A.Br.001/002 et B.Br.CNEVA, respectivement.

L'analyse génétique *a posteriori* des souches du Doubs démontre le caractère strictement clonal des bactéries impliquées dans les dix-sept foyers concomitants de FC de l'épisode de 2008, ainsi que dans le foyer de 2011 du Doubs. Sur les vingt-quatre souches françaises de la lignée A.Br.001/002 séquencées par l'Anses, vingt et une provenaient des foyers de 2008 et 2011 dans le Doubs. Contrairement aux trois autres souches issues de la collection de l'institut Pasteur (CIP), il n'existe que très peu, voire pas du tout, de variabilité au sein des souches du Doubs (un maximum de deux SNP de différence a été identifié parmi les 21 souches). Toutes les souches sont regroupées en un complexe clonal. À l'inverse, les trois souches de la collection de l'Institut Pasteur (CIP), plus anciennes, dont le département d'isolement est inconnu, sont bien distinctes entre elles et très éloignées phylogénétiquement des souches du Doubs, avec plus de 100 SNP de différence (Figure 2). Le génotypage détaillé confirme l'hypothèse émise à l'époque d'une résurgence multifocale de spores liée aux conditions météorologiques particulière de 2008 (Calavas *et al.*, 2008). Il renseigne en outre que l'évolution génétique des spores conservées dans cette région est particulièrement statique, la souche de 2011 étant identique au génotype majeur rencontré en 2008.

L'analyse génétique des souches collectées dans les Alpes démontre quant à elle, une bien plus grande hétérogénéité au sein de la population de spores de *B. anthracis* dans cette région, même si presque toutes les souches des Alpes (quels que soient leur lieu d'isolement et l'année) présentent une parenté forte entre elles. Cette observation est en faveur d'un ancêtre commun ayant évolué localement et de manière distincte aux souches de la lignée B.Br.CNEVA retrouvées dans d'autres massifs montagneux. L'épisode de 2009 de Savoie (17 foyers de FC confirmés sur une quinzaine de communes limitrophes) implique différents génotypes très apparentés mais présentant autant de différences (SNP) entre souches que celles qu'on peut observer avec des souches isolées dans la même vallée en 1997 ou dans d'autres localisations (foyers de 2000, 2006 et 2007), suggérant une histoire de FC plus ancienne dans les Alpes.

Conclusions

Le séquençage d'un grand nombre de génomes combiné à l'identification exhaustive des polymorphismes de type SNP qu'ils contiennent a permis de cartographier avec une grande précision les divers génotypes de *B. anthracis* présents en France. Un outil de typage résolutif, basé sur une technique de PCR a été développé. Il permet de déterminer l'origine géographique probable de n'importe quelle souche de FC présente sur le sol français et d'établir rapidement sa filiation génétique avec tout autre foyer.

Bien que les coûts de séquençage d'un génome bactérien complet soient en constante diminution, le séquençage systématique des souches isolées au cours des foyers de FC n'est pas envisageable (dans un proche avenir). Disposer d'une large banque de données génomiques représentative de la diversité rencontrée sur un territoire est, de ce fait, fort utile pour toute investigation épidémiologique. Cela permet en outre de mettre rapidement en évidence tout événement inhabituel impliquant des génotypes « inattendus » qui nécessiterait de plus amples investigations.

Le maintien de la mémoire des épisodes survenus dans une région et la cartographie des terrains sur lesquels des animaux atteints de FC ont été détenus est un autre aspect essentiel. Tant que des spores persisteront dans les sols, la maladie sera susceptible de ré-émerger périodiquement en ces endroits. Il convient donc de maintenir une sensibilisation vis-à-vis de la FC à l'échelle locale, tant les conséquences en termes de santé animale et de santé humaine peuvent être importantes, nécessitant une surveillance et une prise en charge adaptées.

Remerciements

Les auteurs remercient Nora Madani (Anses) pour l'accès aux souches du LNR fièvre charbonneuse ainsi que la plateforme de séquençage à haut débit IMAGIF (Centre de Recherche de Gif-sur-Yvette (http://www.imagif.cnrs.fr). Ce travail a été financé par l'Agence nationale de recherche (ANR) et la Direction générale de l'armement (DGA) (projet ANR11ASTR0007). Guillaume Girault est un doctorant co-financé par l'Anses et la DGA.

Références bibliographiques

Calavas, D., Sala, C., Vaissaire, J., Condé, J., Thien-Aubert, H., Hessemann, M., Woronoff-Rehn, N., 2008. Retour d'expérience sur un épisode de fièvre charbonneuse chez les bovins dans le Doubs au cours de l'été 2008. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 32 32, 1-6.

Derzelle, S., Laroche, S., Le Fleche, P., Hauck, Y., Thierry, S., Vergnaud, G., Madani, N., 2011. Characterization of genetic diversity of *Bacillus anthracis* in France by using high-resolution melting assays and multilocus variable-number tandem-repeat analysis. J Clin. Microbiol. 49, 4286-4292.

Fediaevsky, A., Madani, N., Garin-Bastuji, B., Moutou, F., 2009. Bilan de la surveillance de la fièvre charbonneuse en 2009 : détection de quelques foyers sporadiques. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 40, 1-2.

Girault, G., Blouin, Y., Vergnaud, G., Derzelle, S., 2014a. High-throughput sequencing of *Bacillus anthracis* in France: investigating genome diversity and population structure using whole- genome SNP discovery. BMC genomics 15.

Girault, G., Thierry, S., Cherchame, E., Derzelle, S., 2014b. Application of high-throughput sequencing: discovery of informative SNPs to subtype *Bacillus anthracis*. Adv Biosci Biotechnol 5, 669-677.

Keim, P., Price, L.B., Klevytska, A.M., Smith, K.L., Shupp, J.M., Okinaka, R., Jackson, P.J., Hugh-Jones, M.E., 2000. Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within *Bacillus anthracis*. J of Bacteriology 182, 2928-2936.

Keim, P.S., Wagner, D.M., 2009. Humans and evolutionary and ecological forces shaped the phylogeography of recently emerged diseases. Nature reviews. Microbiology 7, 813-821.

Madani, N., Mendy, C., Moutou, F., Garin-Bastuji, B., 2009. La fièvre charbonneuse en France. Épisodes de l'été 2009 et foyers enregistrés sur la dernière décennie (1999-2009). Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 38, 1-3.

Marston, C.K., Allen, C.A., Beaudry, J., Price, E.P., Wolken, S.R., Pearson, T., Keim, P., Hoffmaster, A.R., 2011. Molecular epidemiology of anthrax cases associated with recreational use of animal hides and yarn in the United States. PLos ONE 6, e28274.

OIE, 2008. Anthrax in humans and animals.

Vaissaire, J., Mock, M., Le Doujet, C., Levy, M., 2001. Le charbon bactéridien. Epidémiologie de la maladie en France. Médecine et maladies infectieuses 31, 257-271.

Van Ert, M.N., Easterday, W.R., Huynh, L.Y., Okinaka, R.T., Hugh-Jones, M.E., Ravel, J., Zanecki, S.R., Pearson, T., Simonson, T.S., U'Ren, J.M., Kachur, S.M., Leadem-Dougherty, R.R., Rhoton, S.D., Zinser, G., Forlow, J., Coker, P.R., Smith, K.L., Wang, B., Kenefic, L.J., Fraser-Liggett, C.M., Wagner, D.M., Keim, P., 2007. Global Genetic Population Structure of *Bacillus anthracis*. PLos ONE.

Fièvre charbonneuse en 2013 : un foyer en Haute-Marne rappelle que cette zoonose est toujours d'actualité en France

Guillaume Girault (1), Solveig Kuhse (2), Hubert Vin (3), Régine Marchal-Nguyen (2), Karine Laroucau (1), Sylviane Derzelle (1) (sylviane.derzelle@anses.fr)

(1) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Unité Zoonoses bactériennes, Maisons-Alfort, France
(2) Service Santé et protection animales, Direction de la protection des populations de Haute-Marne, Chaumont, France
(3) Groupe vétérinaire néocastrien, Neufchâteau, France

Résumé

En 2013, la France a connu un foyer confirmé de fièvre charbonneuse (FC) dans le département de la Haute-Marne. Du 22 juillet au 13 août 2013, douze cas de morts suspectes de bovins imputables à la FC ont été signalés dans une exploitation qui avait déjà connu en 1998 un épisode de FC. Tous les animaux morts pâturaient dans un unique pré, distinct de la parcelle incriminée en 1998. Malgré le passé de l'exploitation, la suspicion de FC n'a pas été immédiate et les services vétérinaires du département ont été prévenus de manière très tardive (12 août). Des conditions climatiques exceptionnelles, une période de forte chaleur succédant à un printemps particulièrement pluvieux au cours duquel le pré suspecté est resté inondé de nombreux mois, pourraient expliquer la résurgence. Des spores de *Bacillus anthracis* ont été isolées en faible quantité d'un affleurement d'eau souterraine au centre de la pâture. Les souches isolées sur l'exploitation appartenaient à une branche phylogénétique de la lignée A.Br.011/009 spécifique du Nord-Est de la France. Ce foyer nous rappelle que la vigilance face à cette zoonose grave reste de mise. Il est important d'améliorer la réactivité des vétérinaires en cas de suspicion de FC afin d'établir rapidement un diagnostic et de mettre en place des mesures de protection.

Mots-clés

Fièvre charbonneuse, *Bacillus anthracis*, investigation épidémiologique, génotypage

Abstract

Anthrax in 2013: an outbreak in Haute-Marne is a reminder that this zoonosis is still a topical issue for France

In 2013, a confirmed outbreak of anthrax occurred in the Haute Marne department of France. From 22 July to 13 August 2013, 12 cows died suddenly of anthrax in a beef-cattle farm that had already experienced an anthrax episode in 1998. All the affected animals had been kept on pasture in a single field, but not the same field that was involved in the 1998 outbreak. Despite the farm's anthrax history, a correct diagnosis was not made immediately and the departmental veterinary services were contacted late (12 August). Unusual climatic conditions, i.e. a period of very hot weather following a particularly rainy spring during which the suspected field had been flooded for months, could explain the resurgence of the disease. Spores of Bacillus anthracis were isolated in small quantities from a groundwater outcrop area located in the center of the field. Strains isolated in the farm belong to a phylogenetic branch of the A.Br.011/009 lineage that is specific to the northeast of France. This outbreak reminds us that vigilance has to be maintained against this serious disease and that improving veterinarians' reactivity is important in cases of an anthrax outbreak suspicion.

Keywords

Anthrax, Bacillus anthracis, Epidemiological investigation, Genotyping

La fièvre charbonneuse (FC) est une zoonose aiguë qui peut atteindre tous les mammifères. Les animaux les plus exposés sont les herbivores (bovins, ovins, caprins, équins) et en particulier les ruminants qui développent des formes suraiguës ou aiguës de la maladie (Encadré). *Bacillus anthracis*, l'agent responsable de la maladie, existe dans la nature sous deux formes : une forme végétative, retrouvée dans l'organisme hôte, et une forme sporulée, présente dans le sol ou les produits d'animaux infectés (os, peau, laine…). Les herbivores contractent généralement la maladie en ingérant des spores au cours de leur pâture (ingestion d'herbe ou de terre contaminée) ; cette contamination peut également se faire à l'étable, par ingestion d'aliments contaminés (foin en particulier) (OIE, 2008). Chez l'Homme, le contact d'animaux infectés, l'ingestion d'aliments contaminés ou la respiration de poussières contenant des spores peuvent être responsables de la maladie. Les formes cutanées, les plus bénignes, sont néanmoins majoritaires (95 % des cas).

Sous sa forme sporulée, la bactérie peut persister durant de longues années, voire des décennies, dans un sol adéquat (de pH neutre ou légèrement alcalin, à haut degré d'azote et d'ions Ca^{2+}). Si les spores sont hautement résistantes à de nombreux stress (température, dessiccation, pH, radiation, certains désinfectants), il n'en est pas de même de la forme végétative très fragile. La bactérie, qui se multiplie de façon extrêmement rapide dans les organismes hôtes, disparaît très vite après leur mort, concurrencée par les germes de putréfaction. Le sol contaminé par les spores constitue le véritable réservoir de la maladie. Les spores assurent la transmission et les résurgences cycliques de la maladie dans les terres « charbonneuses » (dites « champs maudits »).

La FC a sévit en France pendant des siècles. Le développement d'un vaccin vivant atténué à usage vétérinaire dès la fin du XIX^{e} siècle et la mise en place concomitante d'un service d'équarrissage, évitant l'enfouissement des cadavres d'animaux malades et donc la contamination des sols, ont fait progressivement et spectaculairement régresser la maladie au XX^{e} siècle (Vaissaire *et al.*, 2001). Aujourd'hui, la FC n'apparaît plus que de façon inconstante d'une année sur l'autre dans certaines zones d'élevage ayant connu par le passé des épisodes charbonneux, en particulier dans le Massif Central, les Alpes, la Bourgogne et la Franche-Comté (Calavas *et al.*, 2008 ; Madani *et al.*, 2009 ; Vaissaire *et al.*, 2001). Ces épisodes sont généralement de faible importance avec un ou deux foyers et un ou deux animaux morts par foyer. Ils surviennent essentiellement en été au moment de l'apparition de chaleurs (de la fin du printemps à la mi-automne), en général après des périodes pluvieuses (hiver/printemps), suivie de périodes de sécheresse relativement longues. Une pluie soudaine après un épisode de sécheresse favorise tout particulièrement la remontée des spores à la surface (Vaissaire *et al.*, 2001).

Description du foyer de Haute-Marne

Des cas de FC ont été identifiés lors de l'été 2013 en Haute-Marne dans une exploitation mixte laitier *et allaitant* de plus de 400 bovins. L'enquête dans l'exploitation a permis de reconstruire la chronologie probable du foyer avec une première mortalité imputable à la FC dès le 22 juillet 2013 dans le troupeau allaitant, plus précoce que les premiers diagnostics (16 août) (Tableau 1). Douze bovins sont morts entre le 22 juillet et le 12 août. Le traitement antibiotique des animaux le 12 août, combinée à une surveillance accrue des animaux, s'est avéré efficace pour maîtriser l'épizootie. Aucun autre cas de mortalité n'a été déploré, à l'exception d'une vache laitière qui n'était pas au contact des autres bovins malades. Ce treizième animal a été retrouvé mort le 13 août dans une autre parcelle. L'analyse sanguine s'est révélée négative pour la FC.

Encadré. La biologie de *Bacillus anthracis* en quelques lignes

Agent pathogène
B. anthracis est une bactérie à Gram+, aéro-anaérobie sporulante.
La bactérie synthétise une capsule polypeptide aux propriétés anti-phagocytaires et deux exotoxines de type A-B : le facteur Oedématogène (EF) et le Facteur Létal (LF), associé au facteur PA (protective antigen).
La forme végétative (bactéridie) se développe et se multiplie rapidement suite à la pénétration de spores dans un organisme (germination en présence de CO^2).
Elle est très fragile et sensible à la compétition des germes de putréfaction (*Proteus*, *Pseudomonas* et bactéries anaérobies). La bactéridie disparaît assez rapidement après la mort de l'animal.
La sporulation est rapide en conditions favorables. Elle nécessite une température comprise entre 15 et 42°C, une atmosphère humide et la présence d'oxygène : il y a formation des spores en très grandes quantités lors de l'ouverture d'un cadavre infecté ou d'écoulement de liquides biologiques.

Ecologie et Réservoir
Un sol contaminé par des spores constitue un réservoir permanent de la maladie.
Les spores peuvent persister très longtemps dans certains types de sol (géologie de la zone avec sol à pH neutre ou basique et sous-sol calcaire, matières organiques abondantes).
Les spores étant sensibles aux UV, la charge de surface diminue avec le temps. Une remise en surface des spores est nécessaire, mais non suffisante à l'apparition de la maladie.
Les hivers doux ou les épisodes pluvieux importants favorisent la prolifération de parasites (paramphistomes : altération des muqueuses) et d'insectes (taons : transmission passive) en été qui peuvent jouer un rôle dans la propagation de la maladie.
Certains facteurs météo-hydro-géologiques contribuent à la ré-émergence de la maladie en favorisant la remontée de spores : alternance d'épisodes secs et humides avec forte pluviométrie, hydro-géologie de la zone avec présence d'eaux de surface ou de remontées d'eaux souterraines.
La maladie ne se déclare pas chez tous les animaux d'une même pâture.
Nécessité d'une porte d'entrée dans l'organisme pour la spore (effraction digestive ou de la sphère respiratoire principalement, éventuellement cutanée par le biais d'une plaie ou de piqûres d'insecte).

Maladie animale et symptômes
La mort survient par septicémie (hyperthermie, formation d'œdèmes, troubles de l'hémostase) et/ou choc exotoxinique.
Par ordre de sensibilité décroissante à l'infection, on trouve les petits ruminants, les grands ruminants et les équidés ; viennent ensuite les rongeurs, les lagomorphes et les suidés ainsi que certains oiseaux (autruches, canards de barbarie).
L'évolution de la maladie (formes subaiguë à suraiguë) est fonction de l'espèce animale et de la porte d'entrée du germe (digestive, respiratoire ou cutanée).
Période d'incubation de un à cinq jours.
Lésions pathognomoniques de la maladie mais souvent absentes : sang incoagulable, hémorragies, rate hypertrophiée à pulpe « boueuse », absence de rigidité cadavérique. Lésions anatomo-pathologiques fréquentes. Tableau nécropsique possiblement très incomplet dans les formes suraigües (pas de lésions macroscopiques ou présence d'hémorragies seulement).
Chez les ruminants, la forme suraiguë septicémique est prédominante. Mort brutale sans prodrome fréquente. La FC peut être aisément confondue avec une septicémie à *Clostridium* sp.

Vaccination
Le seul moyen de prévention vis-à-vis de la FC est la vaccination. Pour être efficace, les animaux à protéger doivent être vaccinés au cours de l'hiver et au moins quinze jours avant la mise à l'herbe. Les rappels se font tous les six mois dans les cheptels « à risque ».
Aucun vaccin n'est produit en France. L'importation du vaccin doit se faire avec une autorisation spéciale de l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV). Il s'agit d'un vaccin vivant atténué (souche Sterne).

Tableau 1. Chronologie de l'épisode 2013

Dates	Événement
22/07	1re mortalité imputable à la FC dans l'élevage allaitant (en pâturage sur îlot 16)
02/08	4e mortalité brutale dans le même pré (trois vaches et un veau). Autopsie d'une vache Charolaise sur une plateforme de l'exploitation : suspicion d'infection à Clostridies
09/08	Le nombre de vaches Charolaises mortes dans le même pré s'élève à 10 Autopsie d'une vache qui vient de vêler et suspicion de FC, salmonellose ou infection à Clostridies ; prélèvement de la rate (FC +) et de contenu de l'intestin grêle pour analyse
12/08	12e mortalité brutale Signalement de suspicion de FC (DDecPP, LVD52 et LNR contacté) Arrêté préfectoral de mise sous surveillance (APMS) Mise sous antibiotiques du cheptel
13/08	Mortalité d'une vache laitière ayant vêlé la veille dans un autre pré, prélèvement de sang (négatif FC) Intervention des services vétérinaires (inspection terrain, mise en place des mesures de nettoyage et de désinfection pour les locaux, le matériel et les véhicules, réponse aux questions de l'éleveur
16/08	Confirmation par PCR de FC pour la vache autopsiée (sur rate prélevée le 9 août), résultat négatif pour la vache laitière (sur sang prélevé le 13 août)
20/08	Arrêté préfectoral portant déclaration d'infection d'une exploitation pour FC (APDI)
21/08	Prélèvements de sol et d'eau sur l'îlot 16 Prise de sang sur le veau né de la vache morte le 9 août : négatif en FC L'animal est toujours vivant et en bonne santé.
Du 23 au 29/08	Vaccination de 153 animaux de l'exploitation

La fabrication du vaccin contre la FC n'est plus assurée en France. Le stock de vaccins disponibles sur le territoire au moment du foyer était très faible, inférieur à 500 doses. Cent cinquante doses ont été commandées le 17 août à la centrale d'achat. Le vaccin (composé d'une souche vaccinale atténuée vivante) a été acheminé par le transporteur sans respecter la chaîne du froid et a, par conséquence, été refusé à réception (21 août). Les dernières doses disponibles (n=25) ont été reçues le 22 août et les animaux du pré suspect ont été vaccinés en priorité. Une demande d'importation de vaccins a été faite en urgence pour assurer la vaccination du reste du cheptel.

Investigations vétérinaires

Une première autopsie a été réalisée le 2 août 2013 sur le cadavre de la quatrième vache morte au pré. Celui-ci présentait des lésions de pneumonie, une entérite légèrement hémorragique, une hématurie, de nombreuses pétéchies thoraciques et abdominales, et une putréfaction rapide. L'autopsie a conclu à une mort par septicémie de cause inconnue. Une revaccination contre les infections à Clostridies des animaux du pré où pâturent les vaches allaitantes a été effectuée.

Une seconde autopsie a été pratiquée sur le dixième cadavre (9 août 2013). Les lésions constatées étaient les suivantes : splénomégalie avec décoloration et rate boueuse, entérite hémorragique, pneumonie sévère (hépatisation et abcès), pétéchies importantes sur la paroi thoracique et moins importante sur la paroi abdominale, absence de caillot intracardiaque. Sur base de ces signes, une suspicion de FC et/ou salmonellose et/ou d'infection à Clostridies, est posée. La rate du bovin a été prélevée pour analyse, ainsi que les selles de l'intestin grêle. Ces prélèvements ont été transmis le 12 août au LVD42.

L'anamnèse du treizième et dernier animal, une vache laitière retrouvée morte dans un pré distinct (13 août 2013), était différente. La prise de sang effectuée s'est révélée négative pour la FC.

Tableau 2. Compte rendu et chronologie de l'épisode FC de 1998

Dates	Événement
20/07	1re mortalité brutale vache Pie Noire morte en pâture Animal en lactation ne présentant aucun symptôme le matin même.
22/07	2e mortalité brutale dans le même pré d'une Charolaise en attente de vêlage Examen post-mortem du cadavre (animal météorisé, muqueuses oculaire et vaginale cyanosées, écoulement sanguinolent des narines) Suspicion d'entérotoxémie
23/07	3e mortalité brutale d'une vache Charolaise ; 1re autopsie à l'équarrissage (lésions internes au niveau intestinal et hépatique) Vaccination totale du cheptel contre les Clostridies
Début août	Mortalité brutale d'une vache Montbéliarde (paraplégie, mort en six minutes) et d'une jeune jument de selle Autopsie des deux animaux (tissus sous-cutanés hémorragiques, météorisation, muqueuse cyanosées, écoulement hémorragique nasal, rupture de l'estomac de la jument suite à des coliques violentes)
Août-septembre	Deux nouvelles mortalités de vaches laitières
20/10	Mortalité à l'étable d'un jeune taurillon croisé Pie Noire-Charolais Autopsie à la ferme (météorisation, écoulement sanguinolent, rate dilatée et très épaissie avec plage œdematiée, intestins violacés), prélèvements pour analyse FC (résultats +) Mortalité d'une vache laitière dans une autre pâture, ouverture du cadavre sur un chemin de remembrement (météorisation gazeuse importante, rate et foie normaux), prélèvements pour analyse FC négatifs
23/10	Foyer de FC confirmé ; arrêté préfectoral portant déclaration d'infection d'une exploitation pour FC
Du 27 au 31/10	Vaccination de 280 animaux

Investigations épidémiologiques

Le diagnostic de FC ayant tardé, les cadavres des animaux du foyer ont été livrés à l'équarisseur et détruits sans précaution particulière. Un suivi des personnes à risque (éleveurs, vétérinaires, personnels de l'équarrissage et laborantins) a été mis en place. Une dizaine de personnes ont été placées sous traitement antibiotique. Aucun cas humain de FC n'a été associé à ce foyer. La Fédération départementale des chasseurs (FDC) et l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) ont été alertés, mais n'ont pas fait part d'observation d'une mortalité de la faune sauvage augmentée dans le secteur concerné.

Un précédent foyer de FC avait été déclaré en 1998 dans une autre parcelle de la même exploitation. Durant cet épisode, qui s'était échelonné du 20 juillet au 23 octobre 1998, neuf animaux de différentes espèces et catégories (laitières, allaitantes, taurillon et cheval) étaient morts subitement (Tableau 2). Suite aux examens *post-mortem* et autopsies pratiquées en juillet 1998 sur les cadavres successifs d'animaux, un diagnostic d'entérotoxémie fut à plusieurs reprises posé et le cheptel bovin vacciné contre les Clostridies. La présence du germe de la FC ne fût suspectée que très tardivement (le 22 octobre 1998). Toutes les bêtes, à l'exception d'un taurillon de six mois mort à l'étable, avaient pâturé dans un même pré, suspecté d'être contaminé.

À l'avenir, il a été proposé à l'éleveur que le cheptel soit vacciné régulièrement contre la FC avec une prise en charge financière partielle de la part du GDS.

Les facteurs pouvant expliquer la ré-émergence de la maladie dans cette exploitation ont été recherchés. Plusieurs conditions propices à la remontée en surface des spores ont été évoquées. La pâture concernée est une prairie au réseau aquifère superficiel présentant une zone humide en son centre où affleure de l'eau souterraine (foletière). Deux sources alimentent en eau l'abreuvoir. Le puits d'une de celles-ci a été ré-ouvert en 2013. Le piétinement important des bovins observés sur cette parcelle a pu aider à remuer et disséminer les spores de *B. anthracis*. La remontée en surface des spores aurait également pu être favorisée à l'occasion d'un retournement du sol. Des travaux de drainage (pose de drains) ayant été effectués dans un champ à proximité de la pâture deux ans auparavant, des prélèvements ont aussi été effectués à ce niveau, bien que le délai entre ces travaux et la survenue des cas en fasse une hypothèse très peu probable. Enfin, les conditions climatiques particulières rencontrées en 2013 ont également pu jouer un rôle. Suite à un printemps particulièrement pluvieux, le pré incriminé est resté inondé de nombreux mois, avant la mise en pâture des animaux, ce qui a pu favoriser la remontée de spores.

Investigations microbiologique et environnementale

La rate de bovin prélevée le 9 août 2013 a été adressée au LNR le 13 août pour recherche et identification de *B. anthracis* par culture et PCR multiplexe spécifique. La rate présentait un aspect « boueux » avec du sang noir non coagulé. L'analyse PCR de l'organe a confirmé la suspicion de FC (16 août). Un isolement de colonies caractéristiques à *B. anthracis* a été obtenu et l'espèce bactérienne confirmée le 19 août. Les deux souches de *B. anthracis* isolées ont été genotypées à l'Anses et fait ensuite l'objet d'une caractérisation génétique fine (cf. ci-dessous).

Le 21 août, une investigation conjointe des services vétérinaires de la DDecPP de Haute-Marne et du LNR a été menée avec la participation du vétérinaire sanitaire de l'élevage. Des prélèvements de terre et d'eau sur les sites d'exposition suspectés ont été réalisés afin de rechercher les sources potentielles de contamination. La présence de spores aux emplacements des cadavres des animaux a également été recherchée. Trois échantillons ont été prélevés sur huit sites différents : sur la plateforme bétonnée de l'exploitation où l'autopsie du 9 août a été faite ; sur quatre sites de découverte de cadavres (dans le pré et dans le sous-bois attenant) ; en surface des travaux de drainage ayant eu lieu à proximité du pré incriminé ; dans la zone d'affleurement de l'eau souterraine du pré (foletière) ; au niveau des deux tuyaux alimentant l'abreuvoir en eau de source (dont l'un des puits avait été ré-ouvert dans l'année).

Tableau 3. Résultats d'analyse des prélèvements de terre

	Quantité de spores de *B. anthracis* isolées dans 0,15 g de matrice		
Site de prélèvement	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Plateforme d'autopsie	1-5	> 100	1000
Pré, cadavre 1	Négatif *	100 *	Négatif *
Pré, cadavre 2	0-3	Négatif *	Négatif *
Orée du bois, cadavre 3	100	10	1000
Sous-bois, cadavre 4	0-3	Négatif	Négatif
Drain	Négatif	Négatif	Négatif
Eau de source (abreuvoir)	Négatif	Négatif	
Foletière	Négatif *		Négatif

*présence de spores caractéristiques du groupe *Bacillus cereus* (colonies hémolytiques)

La plupart des sites de prélèvement se sont avérés contenir des spores de *B. anthracis* dans des proportions plus ou moins variables d'un échantillon à l'autre (Tableau 3). Seules l'eau de source alimentant l'abreuvoir et la terre prélevée au niveau du drain sont restées négatives. Il faut néanmoins garder à l'esprit que l'échantillonnage réalisé étant très limité, il ne permet pas de conclure avec certitude à l'absence de contamination en spores de ces deux sites. Le lieu le plus chargé en spores, et ce malgré l'épandage de chaux effectué par l'éleveur les jours précédents, était la plateforme bétonnée sur laquelle avait été réalisée une des autopsies.

L'expertise menée est en faveur d'une résurgence de spores liée aux conditions météorologiques et à un sol déjà contaminé et favorable à la conservation des spores. La foletière est la seule source environnementale dans laquelle la présence de spores a pu être mise en évidence. La contamination détectée y était faible, probablement très hétérogène, mais représente néanmoins une source d'exposition très probable.

Typage des souches de Haute-Marne

L'Anses a récemment réalisé une cartographie à très haute résolution des génotypes de *B. anthracis* présents sur le territoire français. Un outil de typage moléculaire par PCR permettant une identification fine des isolats français en a découlé (Girault *et al.*, 2014).

L'ensemble des souches isolées sur l'exploitation de Haute-Marne en 2013 (n = 8) et 1998 (n = 2) appartiennent à la lignée trans-eurasienne A.Br.011/009 incluant 30 % des souches françaises de *B. anthracis*. Elles se positionnent au sein de la branche phylogénétique française 2 (clade NE) qui regroupe sept souches de la base de données de séquence génomique de l'Anses isolées dans l'extrême Nord-Est de la France (Girault *et al.*, 2014) Sa localisation territoriale, incluant les départements de Moselle (57), Meurthe-et-Moselle (54), Marne (51), Haute-Saône (70) et du Bas-Rhin (67). Tous les isolats de Haute-Marne possèdent la mutation ponctuelle du marqueur SNP BA22 qui définit cette branche, en accord avec l'origine géographique du département.

L'analyse génétique comparative avec la souche séquencée de *B. anthracis* isolée dans la Marne en 1990 indique que les souches isolées de Haute-Marne sont distinctes. Plusieurs marqueurs spécifiques de la souche de la Marne ne se retrouvent pas dans les isolats des foyers de Haute Marne. Le séquençage global d'une de ces souches est en cours. Il devrait contribuer à documenter le caractère supposé clonal des souches impliquées dans ces deux foyers (1998, 2013) et permettre l'identification de signatures ADN (SNP) discriminantes pour ces souches. Un examen approfondi des dix souches isolées de ces deux foyers devraient également nous fournir des informations importantes quant à l'hétérogénéité des spores présentes sur une exploitation et leur évolution génétique entre deux épisodes espacés de quinze ans.

Conclusions et recommandations

La cause de la résurgence de la FC en Haute-Marne en 2013 semble devoir être attribuée aux conditions climatiques particulières de l'année et aux caractéristiques hydro-géologiques propices du terrain. Les épisodes pluvieux importants associés à l'inondation prolongée des terres de pâturage permettent la prolifération de parasites (paramphistomes) et d'insectes (taons) qui peuvent jouer un rôle dans la déclaration ou la propagation de la maladie (Vaissaire *et al.*, 2001). En cas d'ingestion de spores de *B. anthracis* chez les ruminants (une hypothèse plausible pour un cheptel pâturant en « champs maudits »), des facteurs extérieurs, comme des affections digestives ou respiratoires ou du parasitisme qui pourraient provoquer des irritations ou des lésions des muqueuses, sont nécessaires à l'expression de la maladie.

Ce cas de FC nous rappelle que la maladie est de nature à resurgir périodiquement dans les zones contaminées. Or, force est de constater qu'avec le temps, la FC est devenu pour certains une maladie « du passé » tombée dans l'oubli. La FC ne fait souvent pas partie des hypothèses diagnostiques classiques envisagées face à une hyperthermie, une affection respiratoire, digestive ou une mortalité brutale inexpliquée ou faisant penser à de l'entérotoxémie et n'est quasiment jamais envisagée face à des troubles nerveux (Vaissaire *et al.*, 2001). Cette perte de connaissance et d'expérience conduit à une sous-identification de la maladie et à un diagnostic tardif, avec les conséquences que cela implique. Rappelons qu'il peut y avoir suspicion de FC dans les cas suivants : mort brutale même en absence de lésions macroscopiques à l'autopsie, forte fièvre, hémorragies quelle qu'en soit l'origine (avec ou sans absence de coagulation), troubles respiratoires, réactions oedémateuses de taille importante. Face à deux cas de morts subites inexpliquées, la suspicion FC devrait être automatique, y compris en bâtiment (cas de FC lié à l'ingestion de foin contaminé). Conserver la mémoire des épisodes survenus dans une région et cartographier les terrains sur lesquels des animaux sont morts de FC sont également très importants (Anses, 2010).

En cas de suspicion de FC, un prélèvement de sang sur tube sec (sans anticoagulant) sur l'animal malade ou mort est recommandé. Afin d'améliorer la sensibilité du diagnostic, les prélèvements doivent être réalisés avant la mise en œuvre de l'antibiothérapie et de la vaccination. Les animaux morts ne doivent en aucun cas être autopsiés sur place. La DDecPP doit être prévenue immédiatement, ainsi que le laboratoire départemental et le service de l'équarrissage (protection du personnel et traitement des cadavres). Dans tous les cas, le prélèvement doit parvenir au plus vite au laboratoire car la qualité des résultats en dépend. Le transport doit être effectué par un transporteur spécialisé et en triple emballage. L'envoi est pris en charge par l'État dans le cadre de la police sanitaire.

Remerciements

Les auteurs remercient l'éleveur et les agents de la DDASS qui ont contribué à cette étude, ainsi que R. Aaziz (Anses) pour son assistance technique. Guillaume Girault est un doctorant co-financé par l'Anses et la Direction générale de l'armement (DGA).

Références

Anses, 2010. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande d'avis sur les mesures de gestion en santé animale et en sécurité sanitaire des aliments lors de suspicions et de confirmations de cas de fièvre charbonneuse. SA-007.

Calavas, D., Sala, C., Vaissaire, J., Condé, J., Thien-Aubert, H., Hessemann, M., Woronoff-Rehn, N., 2008. Retour d'expérience sur un épisode de fièvre charbonneuse chez les bovins dans le Doubs au cours de l'été 2008. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 32 32, 1-6.

Girault, G., Blouin, Y., Vergnaud, G., Derzelle, S., 2014. High-throughput sequencing of *Bacillus anthracis* in France: investigating genome diversity and population structure using whole- genome SNP discovery. BMC genomics 15.

Madani, N., Mendy, C., Moutou, F., Garin-Bastuji, B., 2009. La fièvre charbonneuse en France. Épisodes de l'été 2009 et foyers enregistrés sur la dernière décennie (1999-2009). Bull. Epid. Santé Anim. Alim 38, 1-3.

OIE, 2008. Anthrax in humans and animals.

Vaissaire, J., Mock, M., Le Doujet, C., Levy, M., 2001. Le charbon bactéridien. Epidémiologie de la maladie en France. Médecine et maladies infectieuses 31, 257-271.

Réseau national de surveillance des virus influenza chez le porc (Résavip) – Résultats des trois premières années de fonctionnement

Séverine Hervé (1), Emmanuel Garin (2)*, Nicolas Rose (3), Clara Marcé (4)*, Gaëlle Simon (1) (gaelle.simon@anses.fr)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Virologie immunologie porcines, Laboratoire national de référence Influenza porcin, Ploufragan, France
(2) Coop de France, Paris, France
(3) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Epidémiologie et bien-être porcin, Ploufragan, France
(4) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France
* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme ESA

Résumé

De 2011 à 2013, le Réseau national de surveillance des virus influenza chez le porc (Résavip) a permis la réalisation, à l'occasion de syndromes grippaux, de 629 visites dans 476 élevages. Les prélèvements ont été réalisés dans quatorze régions même si près de 87 % ont concerné des élevages de Bretagne, région détenant 60 % du cheptel français. Les écouvillonnages nasaux ont conduit à la détection de virus Influenza A dans 53,6 % des cas et à l'identification de 257 souches virales. Cinquante-sept pour cent des virus détectés appartiennent au lignage européen « avian-like swine H1N1 » ($H1_{av}N1$) et circulent dans toutes les régions prélevées. Les virus « human-like reassortant swine H1N2 » ($H1_{hu}N2$) représentent 16,9 % des virus détectés, mais n'ont été identifiés que dans le Grand-Ouest, où l'on trouve également quelques virus réassortants entre $H1_{av}N1$ et $H1_{hu}N2$. Moins de 1 % des cas ont été trouvés infectés par le virus H1N1 pandémique, dans des régions de faible densité porcine. Les animaux prélevés étaient essentiellement des porcs à l'engrais, de tous âges, provenant majoritairement d'élevages de type naisseur-engraisseur. Les cas de grippe confirmés dans le cadre du dispositif ont été détectés tout au long de l'année et étaient généralement d'intensité normale. La forme épidémiologique classique a touché indifféremment tous les stades physiologiques, tandis que la grippe récurrente (près de 40 % des cas) a été rapportée préférentiellement sur des animaux en post-sevrage (âge médian de huit semaines).

Mots-clés

Porc, virus influenza de type A, virus influenza porcin, grippe récurrente, virus réassortant, Résavip

Abstract

French network for the surveillance of influenza viruses in pigs (Résavip) - Results of the first three years of operation

From 2011 to 2013, the French network for the surveillance of influenza viruses in pigs (Résavip) has made it possible to conduct 629 visits in 476 farms in the context of respiratory influenza-like syndromes. While nearly 87% of visits were conducted in Brittany, a region containing 60% of the French pig population, sampling was done in a total of 14 different regions. Nasal swabs enabled the detection of influenza A virus in 53.6% of cases and the identification of 257 viral strains. Fifty-seven percent of the detected viruses belonged to the European "avian-like swine H1N1" ($H1_{av}N1$) lineage and were circulating in all the regions sampled. "Human-like reassortant swine H1N2" ($H1_{hu}N2$) viruses represented 16.9% of the viruses detected but were identified only in the western part of the country, where some reassortant viruses between $H1_{av}N1$ and $H1_{hu}N2$ were also identified. Less than 1% of the cases were found to be infected by the pandemic H1N1 virus, in regions with low pig population density. The sampled animals were essentially fattening pigs of all ages, mostly from farrow-to-finish herds. Confirmed swine flu cases in the context of this surveillance programme were detected throughout the year and were usually of average intensity. The classical epidemiological form affected pigs in all physiological stages equally, while recurrent flu (nearly 40% of cases) was reported preferentially in animals during the post-weaning period (median age of 8 weeks).

Key words

Pig, Influenza Virus A, Swine Influenza Virus, Recurrent flu, Reassortant virus, Résavip

Les virus influenza de type A ont un impact sanitaire et économique majeur, tant en santé animale qu'en santé publique, en raison de leur potentiel zoonotique voire pandémique. Chez le porc, les virus influenza A peuvent être responsables d'infections sporadiques, ou d'épizooties en l'absence d'immunité de population, mais des virus influenza porcins (VIP) bien adaptés à l'espèce ont aussi acquis un caractère enzootique. De nouveaux virus influenza porcins peuvent émerger en France suite à des modifications génomiques (mutations, délétions, réassortiments de gènes…), à un passage inter-espèces ou à une introduction depuis un autre pays (Simon, 2010). Le porc peut d'ailleurs ainsi servir de réservoir à des virus influenza humains et d'hôte intermédiaire pour la transmission de virus aviaires à l'Homme. La grippe porcine est un danger sanitaire de troisième catégorie. Elle n'est donc pas soumise à une police sanitaire.

En France, suite à la pandémie de 2009, due à un virus H1N1 composé de gènes issus de plusieurs virus influenza porcins, les pouvoirs publics et les professionnels de la filière porcine ont jugé nécessaire de disposer d'un système de surveillance épidémiologique des virus influenza A circulant chez le porc. Un dispositif national de surveillance des VIP en France métropolitaine, a ainsi été créé en février 2011 (Notes de service DGAL/SDSPA/N2011-8028, N2011-8050 et N2012-8273). Ce dispositif a démarré son activité en avril 2011 et a été nommé Résavip (Réseau national de surveillance des virus influenza chez le porc) en octobre 2013.

Cet article présente l'organisation de Résavip et ses principaux résultats depuis sa création jusqu'à fin 2013.

Objectifs et organisation de Résavip

L'objectif de Résavip est d'approcher la diversité et la dynamique des virus influenza A circulant chez le porc en France métropolitaine. Ainsi, une surveillance événementielle (passive) a été mise en place, basée sur la notification de suspicions cliniques de grippe et l'identification des virus par analyses de laboratoire. Ce type de surveillance ne permet pas de fournir des estimations de la prévalence ou de l'incidence des VIP, ni d'en détecter de nouveaux à coup sûr dès leur apparition. Cependant, Résavip doit permettre d'avoir une bonne connaissance des VIP présents en France métropolitaine et de leur répartition géographique.

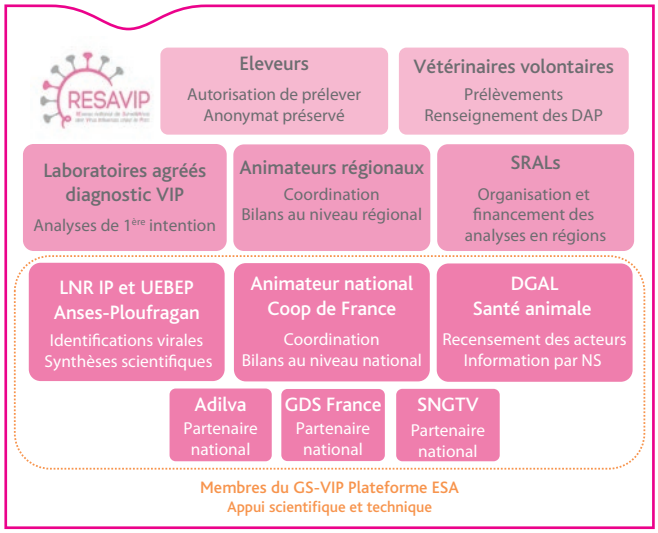

Figure 1. Acteurs et partenaires de Résavip aux niveaux local, régional et national.
DAP=Document d'accompagnement des prélèvements. VIP=Virus influenza porcin. SRAL=Service régional de l'alimentation. LNR-IP=Laboratoire national de référence Influenza Porcin. UEBEP=Unité Epidémiologie et bien-être porcin. Anses=Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. CooP de France=Fédération nationale des coopératives agricoles et agroalimentaires. DGAL=Direction générale de l'alimentation. NS=Note de service. Adilva=Association française des directeurs et cadres des laboratoires vétérinaires publics d'analyses. GDS France=Fédération nationale des groupements de défense sanitaire. SNGTV=Société nationale des groupements techniques vétérinaires. GS-VIP=Groupe de suivi Virus influenza porcins. ESA=Epidémiosurveillance en santé animale

Dans un site d'élevage porcin(1), la suspicion clinique de grippe porcine se base sur l'observation d'un syndrome grippal (hyperthermie, abattement, prostration, apathie, dyspnée ou toux) dans un groupe d'animaux. Un écouvillonnage nasal individuel est réalisé sur trois porcs d'une même bande, présentant, si possible et de préférence, une température rectale égale ou supérieure à 40,5°C. Un site d'élevage, ci-après dénommé élevage, sera considéré comme atteint de grippe au moment de la visite si au moins un de ces trois écouvillons contient du génome de virus Influenza A(2).

Le réseau est organisé et coordonné au niveau régional par un animateur régional, nommé par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) sur proposition de la filière (Figure 1). Celui-ci prépare et distribue, avec l'aide du Service régional de l'alimentation (SRAL) concerné et d'un laboratoire d'analyses vétérinaires agréé par la DGAL pour le diagnostic des virus Influenza A chez le porc, des kits de prélèvements à des vétérinaires volontaires ayant recueilli l'accord de l'éleveur pour investiguer des suspicions de grippe. L'anonymat des élevages est préservé. Les kits contiennent trois écouvillons, un document d'accompagnement des prélèvements (DAP) permettant de recueillir des données pour analyses épidémiologiques, et une enveloppe pour l'expédition des échantillons à l'un des douze laboratoires agréés intervenant dans le réseau (voir N2012-8273). La présence de génome de virus Influenza A est testée dans les trois surnageants d'écouvillons nasaux par RT-PCR en temps réel gène M (Pol *et al.*, 2011). Les prélèvements positifs sont alors envoyés au laboratoire national de référence Influenza porcin (LNR-IP), de l'Anses à Ploufragan, aux fins d'identification du sous-type et du lignage d'appartenance des virus détectés (Simon *et al.*, 2013). Le LNR-IP, en collaboration avec l'unité Epidémiologie et bien-être porcin (UEBEP) de l'Anses à Ploufragan, est également chargé de confronter, par des analyses statistiques, les résultats de virologie et les données récoltées en élevage, afin de décrire les différentes caractéristiques épidémiologiques associées aux infections détectées. Le réseau est coordonné au niveau national par Coop de France. Les autres partenaires nationaux sont GDS-France, la SNGTV et l'Adilva. La Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) assure un appui scientifique et technique par son groupe de suivi virus Influenza porcins (GS-VIP). Le coût des analyses de laboratoire est pris en charge par la DGAL, *via* les SRAL, et les autres frais inhérents au fonctionnement de Résavip sont couverts par les partenaires professionnels.

Fin 2013, Résavip était en place dans l'ensemble des régions de métropole, à l'exception de l'Île-de-France, et comptait vingt animateurs régionaux. Afin d'assurer un retour d'information vers les acteurs de terrain, certaines régions diffusent un bulletin trimestriel. Depuis le deuxième semestre 2013, ces bulletins régionaux sont complétés par un bulletin d'information national trimestriel diffusé dans l'ensemble des régions.

Résultats de la surveillance menée d'avril 2011 à décembre 2013

Au cours des trois premières années (33 mois) de fonctionnement de Résavip, 629 visites d'élevages ont été effectuées par 85 vétérinaires volontaires. Parmi ces visites, 372 (59,1 %) ont concerné des élevages différents, tandis que 257 (40,9 %) ont été réalisées dans des élevages prélevés plus d'une fois (de 2 à 8). Au total, des prélèvements ont ainsi été effectués dans 476 élevages distincts. Le nombre moyen de visites est passé de douze par mois en 2011, année de démarrage, à vingt et une et vingt-trois par mois en 2012 et 2013, respectivement. Les syndromes grippaux qui ont conduit à la réalisation de prélèvements pour diagnostic de grippe ont eu lieu tout au long de l'année (Figure 2). Les 629 visites ont conduit à la détection de virus Influenza A dans 337 cas (53,6 %) provenant de 321 élevages différents. La répartition mensuelle des élevages trouvés positifs confirme que les infections à virus Influenza A sévissent toute l'année chez le porc (Kyriakis *et al.*, 2013), tandis qu'elles sont saisonnières (novembre à avril dans l'hémisphère Nord) chez l'Homme. Les élevages visités étaient répartis dans quatorze régions et vingt-six départements (dont 13 et 20 ont respectivement présenté des cas positifs) (Figure 3A). Près de 87 % des 629 visites ont été effectuées en Bretagne, région détenant environ 33 % des élevages porcins mais 60 % du cheptel du pays(3).

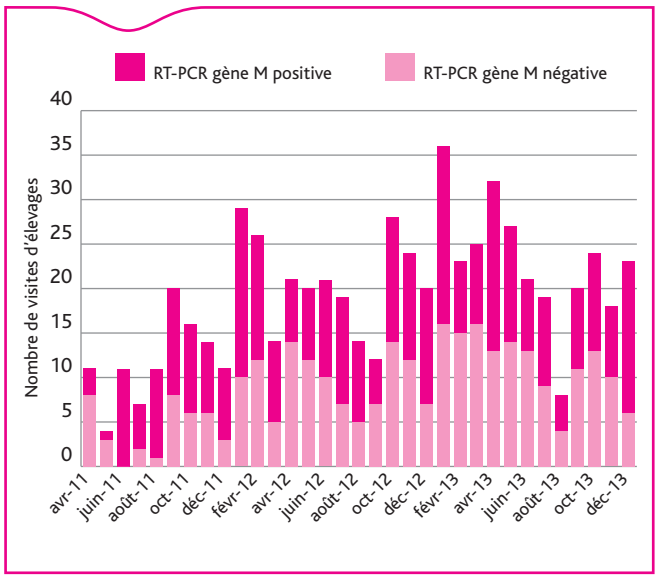

Figure 2. Distribution mensuelle des élevages trouvés négatifs et positifs en RT-PCR gène M entre début avril 2011 et fin décembre 2013 (n=629)

(1) Une exploitation porcine est composée de plusieurs sites d'élevage distincts si les animaux sont élevés dans des bâtiments indépendants et séparés de plus de 500 mètres. L'unité épidémiologique retenue par Résavip est le site d'élevage. Il est identifié par un indicatif de marquage (IDM) unique.
(2) Une « visite », au cours de laquelle sont prélevés trois porcs du même âge, correspond à un « cas ».
(3) Source : base de données BD-PORC

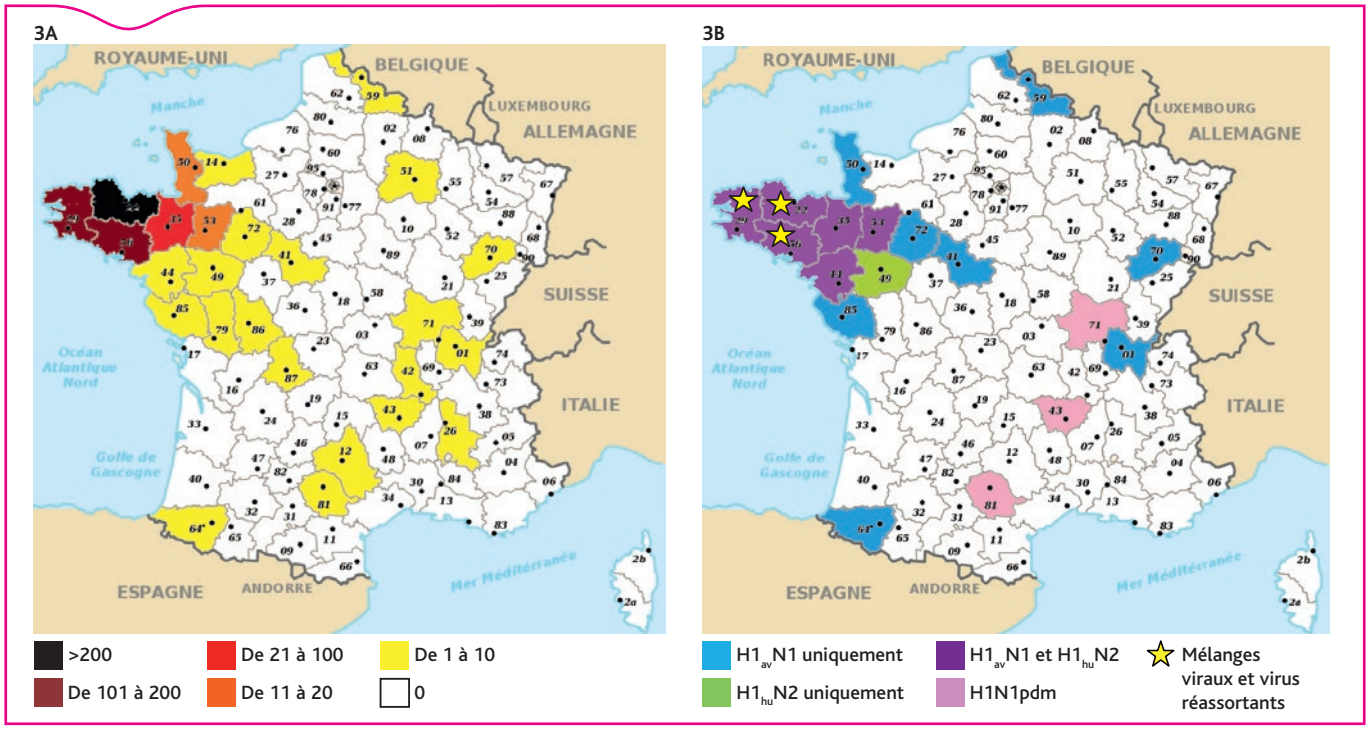

Figure 3. Répartition géographique, au niveau départemental, des visites d'élevages réalisées (n=629) (3A) et des virus identifiés (n=257) (3B) entre début avril 2011 et fin décembre 2013

Virus identifiés et répartition géographique

Des virus Influenza A de trois sous-types différents, H1N1, H3N2 et H1N2, co-circulent depuis de nombreuses années chez le porc dans toutes les régions du monde à forte densité porcine (Simon *et al.*, 2013). On distingue au sein de chaque sous-type des virus de différents lignages génétiques, lesquels varient selon les continents (Simon *et al.*, 2013). Le sous-typage moléculaire des VIP européens, par RT-PCR spécifiques des gènes codant les glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA), permet d'identifier le sous-type et le lignage des virus détectés en France.

Sur les 337 virus détectés *via* Résavip en 2011-2013, 257 (76,7 %) ont pu être sous-typés (Tableau 1). Parmi les virus détectés*:*

- 57,0 % appartiennent au lignage européen « avian-like swine H1N1 » ($H1_{av}N1$);
- 16,9 % appartiennent au lignage européen « human-like reassortant swine H1N2 » ($H1_{hu}N2$);
- trois isolats ont été identifiés comme étant des virus réassortants ($rH1_{av}N2$) entre ces deux virus enzootiques;
- trois élevages (moins de 1 % des cas) ont été trouvés infectés par le virus « pandemic-like swine H1N1 » (H1N1pdm), virus transmis de l'Homme au porc à l'occasion de la pandémie de 2009;
- dans deux élevages, plusieurs types de HA et/ou de NA ont été amplifiés, laissant supposer la présence de plusieurs virus de lignages et/ou sous-types différents,
- dans 23,7 % des cas, le virus détecté n'a été que partiellement identifié ou bien son sous-type est resté totalement inconnu, essentiellement en raison des limites de sensibilité des RT-PCR de sous-typage moléculaire, méthodes moins sensibles que la RT-PCR gène M mise en œuvre pour la détection.

À noter que dans le cadre de Résavip, il n'a pas été identifié, pendant la période considérée, de virus du lignage européen « human-like reassortant swine H3N2 » (H3N2), ni de virus réassortant de sous-type $rH1_{hu}N1$.

Le virus $H1_{av}N1$ a été détecté dans toutes les régions prélevées, tandis que le virus $H1_{hu}N2$ n'a été identifié que dans le Grand-Ouest (Figure 3B). La co-circulation de ces deux virus en Bretagne explique les détections ponctuelles de virus réassortants et/ou de mélanges viraux dans cette partie du territoire. Plusieurs sous-types viraux ont par ailleurs été identifiés dans 41,3 % des élevages (12 sur 29) ayant bénéficié d'au moins deux visites positives, ce qui confirme que les élevages peuvent être successivement, voire simultanément, infectés par des virus grippaux de sous-types et/ou de lignages différents, ce qui prédispose à la génération de nouveaux virus réassortants. Le virus H1N1pdm n'a pas été détecté au cours de cette période dans le Grand-Ouest, mais dans des régions de plus faibles densités porcines, comme l'Auvergne, la Bourgogne et Midi-Pyrénées.

Tableau 1. Répartition des élevages détectés positifs entre avril 2011 et décembre 2013 en fonction de la nature du virus Influenza A incriminé (n=337)

		Nombre de cas				
		2011 (9 mois)	2012	2013	Total 2011-2013	
Nombre total de virus détectés		68	133	136	337	
Sous-type viral	Lignage génétique					Proportion (% des virus détectés)
H1N1	$H1_{av}N1$	30	81	81	192	57,0
	$rH1_{hu}N1$	0	0	0	0	0
	H1N1pdm	1	0	2	3	0,9
H1N2	$H1_{hu}N2$	15	20	22	57	16,9
	$rH1_{av}N2$	2	0	1	3	0,9
	$H1_{av}$+$H1_{hu}$, N2	0	0	1	1	0,3
H3N2	H3N2	0	0	0	0	0
Mélange de plusieurs sous-types ($H1_{av}$ + $H1_{hu}$ + N1 + N2)		1	0	0	1	0,3
Nombre total de virus identifiés		49	101	107	257	76,3
Sous-type partiellement indéterminé ($H1_{av}N?$, $H1_{hu}N?$, H?N1, H?N2)		0	16	8	24	7,1
Sous-type totalement indéterminé (H?N?)		19	16	21	56	16,6

Analyses des données commémoratives recueillies dans les élevages prélevés

Les analyses des données fournies par les vétérinaires volontaires à travers les DAP permettent de mieux connaître l'épidémiologie de la grippe chez le porc. Il faut cependant considérer les résultats avec précaution, car :

(i) ces analyses sont descriptives et ont été réalisées dans un contexte de surveillance événementielle sans plan d'échantillonnage ;

(ii) les analyses statistiques réalisées résultent de tests de variables deux à deux et les éventuelles associations mises en évidence peuvent résulter de l'existence de facteurs de confusion non pris en considération ;

(iii) une approche statistique multivariée n'a pas été entreprise car il s'agit essentiellement, dans le cadre de ce dispositif de surveillance évènementielle, de décrire les caractéristiques épidémiologiques des cas de grippe détectés, sans objectif analytique de mise en évidence de facteurs de risque. Les variables identifiées sont donc au plus des hypothèses de facteurs de risque ouvrant de potentielles voies de recherche pour la mise en place d'études épidémiologiques analytiques dédiées ;

(iv) les données commémoratives rapportées résultent des déclarations du vétérinaire. Elles sont guidées par les indications et définitions procurées dans le DAP (intensité des symptômes, type de grippe…) mais peuvent faire l'objet d'un certain degré de subjectivité.

Typologie des élevages

Les visites (n=629) ont majoritairement été réalisées dans des élevages de type naisseur-engraisseur (NE) (79,5 %), mais des cas de grippe ont également été confirmés dans des élevages post-sevreur-engraisseurs (PSE) (11,3 %), engraisseurs (E) (4,8 %), naisseurs (2,9 %) et post-sevreurs (1,1 %). Les élevages NE constituent le deuxième type d'élevage le plus fréquent en France, représentant 30,2 % des sites d'élevages[(4)]. Comparativement, la proportion d'élevages de type E prélevés pour syndromes grippaux dans le cadre du Résavip apparaît donc faible sachant que ce type d'élevage représente 34,2 % des élevages en France. Des infections à virus Influenza A ont été confirmées dans les cinq types d'élevage. Les proportions de cas positifs n'apparaissent pas significativement différentes que les élevages aient ou n'aient pas de reproducteurs sur site (54,2 % et 50,9 % de cas positifs, respectivement) (P=0,53, χ^2 Pearson). Dans la majorité des épisodes grippaux étudiés, ce sont essentiellement des porcs en croissance qui ont été prélevés (83,3 % des visites), les prélèvements de truies et/ou de cochettes n'ayant représenté respectivement que 11,9 % et 1,4 % des cas investigués. Les porcs en croissance trouvés positifs ont été prélevés à tous les stades physiologiques, de la naissance au départ à l'abattoir.

(4) Source : base de données BD-PORC.

Formes épidémiologiques et caractéristiques associées aux infections grippales investiguées dans le cadre du Résavip

Dans les trois quarts (73,9 %) des cas renseignés en 2013 (n=203), les prélèvements ont fait suite à la déclaration d'un syndrome grippal par l'éleveur, et non à une visite de routine. La proportion de cas positifs n'a pas été significativement plus élevée lorsqu'il s'agissait de visites d'urgence que dans les visites de routine (53,3 % et 47,2 % respectivement, soit 80 et 25 cas respectivement) (P=0,44, χ^2 Pearson). Pour la majorité des visites (72,3 % des cas renseignés) les porcs prélevés étaient malades depuis moins de cinq jours. On relève que 60,7 % des cas positifs ont concerné des animaux dont la température rectale moyenne était ≥40,5°C, montrant qu'il y a significativement plus de probabilité de détecter du virus influenza A dans les surnageants d'écouvillons nasaux lorsque les porcs prélevés ont une température rectale *élevée* (P<0.001, χ^2 Pearson).

Pour 124 visites réalisées en 2013 (64,2 % des cas renseignés), les vétérinaires ont suspecté qu'un autre agent pathogène soit associé au syndrome grippal. Le plus fréquemment rapporté est le virus du Syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) (58,9 %), puis viennent les mycoplasmes (12,1 %) et *Haemophilus parasuis* (10,5 %). Sont également cités, *Actinobacillus pleuropneumoniae* et *Streptococcus suis*, le circovirus porcin de type 2 (PCV2), les pasteurelles et *Escherichia coli* (dans moins de 10 % des cas chacun). Des informations quant aux presciptions médicamenteuses qui ont concerné les animaux prélevés ont été recueillies pour 226 visites. Dans 27,9 % des cas (n=63), les animaux étaient sous anti-pyrétique, de l'aspirine dans la majorité des cas, avec une durée moyenne de traitement de 1,4 jour. Ces traitements peuvent expliquer pourquoi certains porcs ont été prélevés alors que leur température était inférieure à 40,5°C. Une antibiothérapie collective, essentiellement à base de cyclines, a été rapportée dans 22,6 % des cas.

La grippe peut s'exprimer chez le porc sous forme « classique », responsable d'un syndrome grippal aigu pouvant se propager dans différentes classes d'âge dans l'élevage touché mais de manière épisodique, ou sous forme « récurrente », se répétant sur chaque bande à un âge déterminé (Rose *et al.*, 2013a,b). Dans le cadre de Résavip, 60,9 % des cas trouvés positifs détectés entre 2011 et 2013 et pour lesquels le type de grippe a été qualifié (n=322), étaient déclarés à l'occasion de syndromes de grippe dite « classique » tandis que 39,1 % des cas étaient qualifiés de grippe « récurrente ». Ces deux formes de grippe sévissent toute l'année, in*dépendamment* de la saison, et on ne dénombre pas plus de cas de grippe « récurrente » parmi les élevages prélevés plusieurs fois comparativement aux élevages n'ayant été visités qu'une fois au cours de la période (Tableau 2). Les manifestations cliniques des infections grippales chez le porc peuvent être plus ou moins marquées (Simon *et al.*, 2013). Ainsi, le syndrome grippal a été jugé d'intensité « normale » dans 77,1 % des cas et d'intensité « sévère » dans 11,9 % des cas confirmés positifs (n=489). Il n'a pas été mis en évidence d'association statistique significative entre l'intensité des symptômes et la forme de la grippe (Tableau 2).

Tableau 2. Répartition des élevages détectés positifs entre avril 2011 et décembre 2013 en fonction du type de grippe (classique ou récurrente) et de différents paramètres. P=degré de signification du test statistique. [a] Test du χ^2 Pearson. [b] Test de Kruskal-Wallis. [c] Test exact de Fisher.

Paramètres		Nombre d'élevages positifs concernés	Type de grippe associée		P
			Classique	Récurrente	
Nombre de visites entre 2011 et 2013	1	188	121 (64,4 %)	67 (35,6 %)	0,15[a]
	>1	134	75 (56,0 %)	59 (44,0 %)	
Intensité des symptômes	Normale	245	153 (62,4 %)	92 (37,6 %)	0,20[a]
	Sévère	44	23 (52,3 %)	21(47,7 %)	
Age médian (en semaines)		264	11,5 (n=154)	8 (n=110)	<0,0001[b]
Virus	$H1_{av}N1$	184	115 (62,5 %)	69 (37,5 %)	0,75[c]
	$H1_{hu}N2$	56	33 (58,9 %)	23 (41,1 %)	
	H1N1pdm	3	2 (66,7 %)	1 (33,3 %)	
	Mélanges $H1_{av}N1/H1_{hu}N2$ ou $rH1_{av}N2$	5	2 (40,0 %)	3 (60,0 %)	
Vaccination antigrippale	Oui	128	66 (51,6 %)	62 (48,4 %)	0,31[a]
	Non	57	34 (59,7 %)	23 (40,3 %)	

La grippe « récurrente » a préférentiellement touché les jeunes au stade du post-sevrage, vers huit semaines d'âge, tandis que les infections observées dans un contexte de grippe « classique » sont survenues tout au long de la vie des animaux, avec un âge médian de onze semaines (Tableau 2). Cette différence significative concernant l'âge médian des animaux touchés par les deux formes de grippe ne résulte *a priori* pas d'un biais de surveillance qui aurait pu être lié au type d'élevage ou à l'expression clinique de la maladie en fonction de l'âge. En effet, les porcelets en post-sevrage sont présents dans la grande majorité des élevages investigués (NE, PSE). De plus les symptômes cliniques sont souvent moins marqués chez les jeunes porcelets par rapport aux porcs en engraissement. Si cette différence d'expression clinique liée à l'âge constituait un biais de surveillance, elle devrait impliquer des prélèvements plus fréquents chez les porcs en engraissement et donc conduire à une relation inverse de celle observée. En revanche, il n'a pas été mis en évidence d'association statistique significative entre la forme de la grippe et le lignage du virus responsable de l'infection (Tableau 2). Il n'a pas non plus été mis en évidence de relation statistique entre l'intensité des symptômes et l'âge des porcs infectés, ni entre l'intensité des symptômes et le virus impliqué (données non montrées).

Vaccination

Des informations quant à l'utilisation ou non de la vaccination contre la grippe n'ont été fournies que pour 60,3 % (n=379) des visites. Les données recueillies ont montré que la vaccination (vaccin trivalent Gripovac3®) était principalement réalisée à chaque bande, plutôt qu'en masse, et ne concernait que les reproducteurs. Les données relatives à la vaccination (protocole, fréquence, catégorie d'animaux vaccinés) ont été renseignées par les vétérinaires qui suivent ces élevages et donc prescripteurs des protocoles mis en place. Les biais d'observation concernant ce paramètre sont limités dans la mesure où les protocoles de vaccination en élevage porcin sont mécaniquement réalisés en lien avec le type de conduite. Un biais éventuel pourrait résulter d'une mauvaise efficacité du protocole de vaccination mis en place du fait de vaccinations mal réalisées ou d'une mauvaise conservation des vaccins. Cinquante-cinq pour cent des élevages déclarés vaccinés (n=242) ont été trouvés positifs, contre 46 % des élevages non vaccinés (n=137). Aucun lien statistique n'a été mis en évidence entre le fait qu'un élevage ait fait l'objet ou non d'une vaccination contre la grippe et le résultat de la RT-PCR gène M (P=0,009, χ^2 Pearson). Il n'a pas non plus été mis en évidence de relation statistique significative entre le fait qu'un élevage ait fait l'objet, ou non, d'une vaccination et la forme de grippe (classique ou récurrente) (Tableau 2), l'intensité du syndrome grippal (données non montrées), ou encore l'identité du virus détecté (données non montrées).

Conclusion

Depuis son démarrage en 2011, Résavip, dispositif de surveillance des VIP tout à fait inédit en Europe, a permis d'augmenter considérablement le nombre annuel d'identifications virales et de progresser dans la connaissance des éléments épidémiologiques liés aux infections grippales en élevage porcin. La diversité génétique toujours croissante des VIP ainsi que l'évolution actuelle de l'épidémiologie des infections (augmentation de la proportion des formes récurrentes) confirment la nécessité impérieuse de poursuivre la surveillance des VIP circulant sur le territoire. L'accumulation de données permettra de formuler des hypothèses relatives aux facteurs de risque de survenue de la grippe en élevage porcin afin d'orienter et/ou de compléter des études spécifiques menées par ailleurs (Fablet *et al.*, 2013). La fédération des acteurs de la filière porcine, des pouvoirs publics et des laboratoires d'analyses, de référence et de recherche autour d'un objectif commun a d'ores et déjà révélé l'intérêt d'un tel dispositif, même si des axes d'amélioration concernant le fonctionnement ont été relevés. Les résultats obtenus par Résavip en 2011-2013 n'illustrent encore pas la situation française métropolitaine dans sa globalité car huit régions n'ont pas fait l'objet de prélèvements pendant cette période. Il convient donc de poursuivre la dynamisation du réseau sur tout le territoire, par exemple dans les régions frontalières du Nord où le virus H3N2 a été détecté dans d'autres circonstances ces dernières années (Hervé *et al.*, 2012 ; Simon *et al.*, 2013). Afin d'accompagner au mieux les animateurs régionaux, les vétérinaires et les SRALs, une proposition d'échantillonnage, à la fois basée sur la répartition géographique des élevages, les mouvements d'animaux et les risques d'introduction de VIP, est en cours réflexion. Les données d'élevage récoltées *via* les DAP sont très informatives mais ne peuvent être correctement exploitées que si elles sont obtenues pour la totalité des visites réalisées. L'amélioration des outils informatiques pour la saisie et l'analyse des données permettra un meilleur fonctionnement et la pérennité de l'approche.

Une diminution (de 65 % à 49 %) de la fréquence annuelle d'élevages positifs a été constatée au cours de ces trois premières années de fonctionnement. Il convient donc de rappeler que l'objectif de Résavip n'est pas le diagnostic d'exclusion d'une infection à virus influenza A en cas de phénomène pathologique respiratoire porcin. En effet, les VIP ne sont pas les seuls agents pathogènes responsables des syndromes grippaux chez le porc (Fablet *et al.*, 2012). En 2013, une suspicion d'infection par un autre agent pathogène a d'ailleurs été signalée dans 64,2 % des cas renseignés. L'absence de signe pathognomonique rend donc difficile la distinction clinique des infections à virus Influenza A, mais en revanche il a été confirmé que sélectionner les porcs à prélever en fonction de leur température rectale (≥40,5°C) augmente la probabilité de détecter un virus influenza A.

Enfin, la définition d'indicateurs de fonctionnement par le GS-VIP de la Plateforme ESA permettra prochainement au réseau d'évaluer en continu la qualité de son fonctionnement et, le cas échéant, d'envisager d'autres axes d'amélioration.

Remerciements

Les auteurs remerciements vivement tous les acteurs de Résavip pour leur investissement et leur contribution au fonctionnement du réseau : animateurs régionaux, vétérinaires volontaires, éleveurs, laboratoires d'analyses vétérinaires agréés, personnel technique du LNR *Influenza* Porcin et les SRAL. Ils remercient également les structures partenaires, Coop de France, Anses, DGAL, GDS France, SNGTV et Adilva, pour leur participation et leur soutien, ainsi que le Groupe de suivi Virus *influenza* porcins de la Plateforme ESA pour son appui scientifique et technique.

Références bibliographiques

Fablet C., Marois C., Simon G., Grasland B., Kobisch M., Jestin A., Madec F., Rose N, 2012. Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: a cross sectional study. Vet Microbiol 157, 152-163

Fablet C., Simon G., Dorenlor V., Eono F., Eveno E., Gorin S., Quéguiner S., Madec F., Rose N., 2013. Different herd level factors associated with H1N1 or H1N2 *influenza* virus infections in fattening pigs. Prev Vet Med 112, 257-265.

Hervé S., Quéguiner S., Barbier N., Gorin S., Saulnier A., Simon G, 2012. Isolement d'un virus *influenza* porcin de sous-type H3N2 dans un élevage de porcs localisé dans le département du Nord. Bull Epid Santé Anim Alim Anses-DGAL 51, 22.

Kyriakis C.S., Rose N., Foni E., Maldonado J., Loeffen W.L.A, Madec F., Simon G., Van Reeth K., 2013. *Influenza* A virus infection dynamics in swine farms in Belgium, France, Italy and Spain, 2006-2008. Vet Microbiol 162, 543-550.

Pol F., Quéguiner S., Gorin S., Deblanc C., Simon G., 2011. Validation of commercial real-time RT-PCR kits for the detection of *Influenza* A viruses in porcine samples and differentiation of pandemic (H1N1) 2009 virus in pigs. J Virol Meth 171, 241-247.

Rose N., Hervé S., Eveno E., Barbier N., Eono F., Dorenlor V., Andraud M., Camsusou C., Madec F., Simon G., 2013a. Dynamics of *influenza* A virus infections in permanently infected pig farms: evidence of recurrent infections, circulation of several swine *influenza* viruses and reassortment events. Vet Res 44, 72.

Rose N., Hervé S., Eveno E., Barbier N., Eono F., Dorenlor V., Camsusou C., Madec F., Simon G., 2013b. Caractéristiques épidémiologiques des infections grippales récurrentes en élevage porcin. Journées Recherche Porcine 45, 261-266.

Simon, G., 2010. Le porc, hôte intermédiaire pour l'apparition de virus *influenza* réassortants à potentiel zoonotique. Virologie 14, 407-422.

Simon G., Hervé S., Rose N., 2013. Epidémiosurveillance de la grippe chez le porc en France entre 2005 et 2012 : Dispositifs, virus détectés et données épidémiologiques associées. Bull Epid Santé Anim Alim Anses-DGAL 56, 17-22.

Situation épidémiologique actuelle de la diarrhée épidémique porcine dans le monde et caractéristiques physiopathologiques de la maladie

Béatrice Grasland (1) (beatrice.grasland@anses.fr), Nicolas Rose (1)
(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

Résumé
Depuis 2013, une épizootie sévère de diarrhée épidémique porcine (DEP) affecte les États-Unis et s'étend aujourd'hui à plusieurs pays dans le monde. Les signes cliniques sont une diarrhée aqueuse pouvant être accompagnée de vomissements. Les porcelets sous la mère sont les animaux principalement affectés et les taux de mortalité observés chez cette catégorie d'animaux lors de cette épizootie atteignent 95-100 %. Les animaux adultes peuvent être touchés mais le taux de mortalité est au maximum de 5 %. La maladie est causée par un alpha-coronavirus appelé virus de la DEP (vDEP) qui ne présente pas de caractère zoonotique. Les nouveaux variants de vDEP isolés depuis 2013 montrent une pathogénicité accrue par rapport aux souches de vDEP circulant dans les années 80 en Europe. La dose minimale infectante de ces nouveaux variants de vDEP est très faible et le virus présente une résistance importante à différents traitements physiques. Ces données mettent en évidence que le vDEP peut être propagé efficacement par l'homme en intervenant directement dans les élevages (transport mécanique), ou par l'intermédiaire de matériel contaminé. En Europe, l'immunité de population vis-à-vis du vDEP est faible et la DEP a été ajoutée à la liste des dangers sanitaires de première catégorie en France rendant obligatoire la déclaration de tout cas de DEP. En cas d'introduction en France, seule une identification rapide du ou des premiers cas permettra la mise en place rapide de mesures de gestion combinées à des mesures de biosécurité strictes pour limiter la propagation de la maladie.

Mots-clés
Diarrhée épidémique porcine, caractéristiques cliniques, physio-pathologie

Abstract
Current epidemiologic situation of porcine epidemic diarrhea in the world and physio-pathogeny of the disease
Since 2013, an acute epizooty of Porcine epidemic diarrhea (PED) has affected the USA and is now spreading to several countries all around the world. Clinical signs are represented by a profuse aqueous diarrhea with sometimes vomiting, mainly observed in suckling piglets with mortality rate reaching up to 95-100% in this animal category. Adult animals can be affected with a lower mortality rate (maximum 5%). The etiological agent is an alpha-coronavirus, called Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) and is not zoonotic. New variants of PEDV isolated in 2013 showed a high pathogenicity compared to strains previously isolated in Europe in the 80's. The minimal infectious dose of these new PEDV variants is very low and PEDV is highly resistant to physical treatments. Thus PEDV can be efficiently propagated by people entering herds (mechanical carriers) or through the use of material potentially contaminated. In Europe, the immune status of the pig population against PEDV is low. In France, PED is now classified in list of the first category of animal health hazards making notification of all cases compulsory. In case of introduction in France, only a fast identification of the first case(s) will allow to implement rapidly control measures together with reinforcement of biosecurity to limit the disease spread.

Keywords
Porcine epidemic diarrhea, Clinical parameters, Pathophysiology

La diarrhée épidémique porcine (DEP) a été décrite pour la première fois en Angleterre en 1971 (Oldman, 1972). Elle se manifeste par l'apparition de diarrhées liquides et de vomissements chez les porcelets mais également chez les animaux en engraissement. Les épizooties de DEP sont plus généralement observées l'hiver. La DEP ressemble au niveau clinique à la gastro-entérite transmissible (GET). Les deux maladies sont d'ailleurs toutes les deux causées par une infection par des alpha-coronavirus. Le virus de la diarrhée épidémique (vDEP) a été identifié en 1978, associé à des cas de diarrhée liquide et la souche isolée, appelée CV777, est considérée comme la souche européenne de référence (Chasey and Cartwright, 1978 ; Pensaert and de Bouck, 1978). Le vDEP diffère au niveau génomique et antigénique du virus de la GET. La souche CV777 a permis de reproduire expérimentalement les symptômes de DEP chez des porcelets sous la mère et chez des porcs en engraissement (Debouck and Pensaert, 1980).

En Amérique, à part quelques cas de DEP décrits au Canada dans les années 1980, les États-Unis et l'Amérique latine étaient indemnes de DEP jusqu'en 2013 (Rose and Grasland, 2014). Fin avril 2013, des premiers cas de DEP ont été observés aux États-Unis avec des taux de mortalité compris entre 95 et 100 % chez les porcelets sous la mère (Stevenson *et al.*, 2013). L'épizootie se maintient encore un an plus tard avec plus de 150 nouveaux élevages affectés par semaine. Vingt-neuf États et plus de 7 000 élevages ont été touchés, entraînant la mort de plus de cinq millions de porcs. Les souches isolées aux États-Unis ont montré 99,5 % d'homologie avec une souche isolée lors d'épisodes de DEP de sévérité singulière en Chine en 2012 (Huang *et al.*, 2013). L'épizootie s'est propagée au Canada en février 2014, atteignant l'Ontario principalement (cinquante-huit élevages touchés au 10 mai 2014) mais aussi le Manitoba (quatre élevages), le Québec (un élevage) et l'île du Prince Edouard (un élevage). Depuis le 22 janvier la DEP a progressé de façon relativement modérée (un à sept nouveaux cas par semaine) (http://www.leseleveursdeporcsduquebec.com/les-eleveurs-fr/actualites.php).

Des cas ont aussi été identifiés en Amérique Centrale et du Sud. C'est au Mexique que la situation semble la plus critique. Les autorités sanitaires mexicaines ont en effet fait une déclaration à l'OIE le 21 mai 2014 rapportant une épizootie ayant touché jusqu'ici quatre-vingt-trois élevages dans dix-sept États différents. Le début de l'épizootie est daté au 30 juillet 2013 et elle s'est propagée aux parties centrale et ouest du Pays. Les informations sont moins précises dans d'autres pays d'Amérique latine même si plusieurs importantes suspicions dans une dizaine d'élevages faisant face à une surmortalité associée à des vomissements et de fortes diarrhées dans différentes provinces en Colombie (Neiva, Huila, Cundinamarca et Meta) ont aujourd'hui fait l'objet d'une déclaration officielle à l'OIE.

La maladie a également été décrite en République dominicaine et la présence du vDEP confirmée sur l'île. Dix-sept élevages seraient touchés, impliquant la mort d'environ 8 500 porcs. La maladie est également apparue au Japon en octobre 2013 après sept ans d'absence. Depuis, 664 élevages ont été touchés dans trente-huit préfectures.

L'évolution de l'incidence hebdomadaire au Japon depuis le début de l'épizootie présente des similitudes avec ce qui est observé aux États-Unis : après une première phase de décembre 2013 à janvier 2014 d'accroissement modéré de l'incidence puis de déclin dans la province de Kyusyu/Okinawa, un accroissement brutal et très rapide est observé début mars 2014, atteignant un pic épidémique de près de cent nouveaux cas hebdomadaires à la mi-avril. Si l'incidence reste assez stable sur la province initialement touchée de Kyusyu/Okinawa, l'augmentation de l'incidence globale semble être liée à une extension très rapide à d'autres régions (Tokai, Kanto et Tohoku principalement). Depuis la mi-avril 2014, l'incidence semble en diminution. La maladie est également présente dans plusieurs autres pays asiatiques :

- en Chine où la maladie était probablement présente de manière enzootique avant 2010 mais où une forme plus sévère et epizootique semble avoir émergé fin 2010 malgré l'utilisation courante de la vaccination dans ce pays (Li *et al.*, 2012),
- en Corée du Sud, le Korea Rural Economic Institute (KREI), estime que 19 % des élevages de porcs de Corée du Sud ont connu un épisode de DEP réduisant la production en porcelets de ces élevages de près de 25 %,
- au Vietnam où, des foyers émergents de DEP ont été confirmés dès le début 2009 par les examens nécropsiques et la réalisation de RT-PCR dans la plupart des provinces du Sud Vietnam (Do *et al.*, 2011).

Signes cliniques et lésions

Le principal signe clinique de la DEP est une diarrhée liquide parfois précédée de vomissements. Chez les animaux adultes, l'infection peut toutefois être sub-clinique ou provoquer uniquement des signes d'anorexie et de vomissement. Lors d'épizootie, les taux de mortalité peuvent varier de 50 % en moyenne jusqu'à 95-100 % chez les porcelets sous la mère comme lors de l'épizootie qui sévit actuellement en Amérique du Nord. Les porcelets sous la mère présentent des signes cliniques dans les vingt-quatre à quarante-huit heures après l'infection et ce pendant trois à quatre jours avant de mourir. Les animaux plus âgés récupèrent une semaine après l'apparition des signes cliniques. La durée d'une primo-infection dans un élevage dure de trois à dix semaines à l'échelon de l'élevage. Les lésions macroscopiques ont été décrites chez des animaux naturellement ou expérimentalement infectés (Coussement *et al.*, 1982 ; Ducatelle *et al.*, 1982 ; Jung *et al.*, 2014 ; Pospischil *et al.*, 1982). Les macro-lésions se concentrent au niveau du petit intestin, dont la paroi devient fine et transparente et dont le contenu est aqueux et de couleur jaunâtre (Stevenson *et al.*, 2013).

Reproduction de la maladie

La DEP a pu être reproduite expérimentalement peu de temps après l'identification de l'agent causal, sur des porcelets âgés de deux à dix-huit jours et inoculés par voie orale avec la souche européenne CV777 (Debouck *et al.*, 1981). Les porcelets ont présenté rapidement des signes cliniques entre vingt-deux à trente-six heures après inoculation. La réplication du virus a alors été démontrée dans les cellules épithéliales des villosités du petit intestin dès douze heures post-inoculation, mais également au niveau du colon. Des résultats similaires ont été obtenus avec une souche américaine isolée en juin 2013 (Jung *et al.*, 2014). Des porcelets âgés de dix à trente-cinq jours ont été inoculés par voie oro-nasale ou orale avec $10^{6,3}$ à 10^{9} copies équivalent-génome. Les porcelets ont commencé à excréter le virus dans les fèces dès vingt-quatre heures post-inoculation et tous les porcelets ont montré des signes cliniques sévères de diarrhée. Le virus a été détecté dans la totalité de l'intestin avec le jéjunum et l'iléon comme premiers sites d'infection. Tous les animaux ont également présenté une virémie jusqu'à $10^{7,6}$ copies équivalentes au génome/mL après l'apparition des signes cliniques.

Les anticorps contre le vDEP sont détectés entre deux à trois semaines après infection et peuvent persister plus de deux ans. Cependant la présence d'anticorps sériques n'est pas une preuve de protection. La protection vis-à-vis d'une réinfection est plutôt reflétée par la présence d'une immunité mucosale intestinale qui est, elle, de courte durée (Pensaert, 1989). Les porcelets sont protégés par les anticorps maternels présents dans le colostrum jusqu'à l'âge de quatre à treize jours, la durée de l'immunité dépendant du titre sérologique de la mère (Song and Park, 2012). Après une primo-infection, des réinfections périodiques sont décrites dans certains élevages (Dufresne and Robbins, 2014) et peuvent avoir lieu dès cinq mois après le premier épisode de DEP et ce en présence d'anticorps chez les animaux (Pensaert, 1989).

Agent causal : structure

Le vDEP est un coronavirus, classé dans le genre *Alphacoronavirus*. Il s'agit d'un virus enveloppé à ARN positif, simple brin de 28 kb environ. Le virus ne provoque pas de maladie chez l'Homme. Le virus peut être cultivé *in vitro* sur cellules Vero (cellules de rein de singe vert africain) en présence de trypsine dans le milieu de culture. Il reste néanmoins difficile à cultiver (Song and Park, 2012).

Le génome viral présente la structure commune à tous les coronavirus. Une coiffe en 5' et une queue polyA en 3'. L'ordre des gènes sont dans l'ordre canonique réplicase-S-E-M-N. La réplicase est codée par deux ORF, 1a et 1b. Le gène S code pour la protéine de spicule à la surface du virion, le gène E pour la protéine d'enveloppe, le gène M pour la protéine de matrice et le gène N pour la nucléocapside qui entoure et protège l'ARN viral (Masters, 2006). Le vDEP présente un ORF supplémentaire appelé ORF3, situé entre le gène S et E. Par analyse phylogénétique, en se basant sur les séquences des gènes S, M et ORF3, il est possible d'identifier différent clusters selon la région d'origine. Des formes plus virulentes ont été décrites en 2011 et 2012 en Chine. L'analyse phylogénétique conduite sur le génome complet des souches isolées aux États-Unis en mai 2013 sont proches d'une souche isolée en 2012 dans la province d'Anhui en Chine. Les souches américaines de vDEP présentent des insertions aux acides aminés 56 à 59 et 139 et une délétion des acides aminés 160 à 161 dans la protéine S par rapport à la souche européenne de référence CV777. Ces particularités sont également identifiées chez les souches de vDEP isolées récemment en Corée du Sud et en Chine (Huang *et al.*, 2013).

Transmission

Le vDEP se transmet essentiellement par voie oro-fécale entre porcs. L'épizootie au sein d'un élevage sensible survient quatre à cinq jours après l'introduction ou la vente de porcs. Le virus est ainsi probablement introduit en élevage *via* des porcs infectés ou par des vecteurs mécaniques (bottes, camions, etc.), soulignant l'importance des mesures de biosécurité et d'hygiène dans la prévention de l'introduction du vDEP en élevage. Le virus est susceptible de persister plus facilement sous une forme enzootique au sein de l'élevage après une première phase épizootique. Un cycle enzootique peut ainsi s'instaurer dans les élevages où le rythme de rotation est important et s'accompagne de mélanges de portées issues de bandes différentes et de statut immunitaire hétérogène.

Afin de déterminer la dose minimale infectante avec une souche de vDEP isolée aux États-Unis en 2013, des dilutions en série de dix en dix ont été réalisées à partir d'un homogénat clarifié de muqueuses d'intestin prélevées sur un porcelet affecté par la DEP. Ces dilutions ont ensuite été inoculées par voie oro-nasale à des porcelets de dix jours. Des signes cliniques de diarrhée ont été observés chez les porcelets ayant reçu les dilutions 10^{-2} à 10^{-8}. Aucun signe clinique n'a été relevé chez les animaux inoculés avec les dilutions 10^{-9} à 10^{-12}. Ces résultats indiquent que la dose infectieuse minimale du vDEP est très faible (Goyal, 2014). De plus, dans l'étude de reproduction expérimentale de la maladie où les animaux excrétaient du virus dès vingt-quatre heures post-inoculation, un porcelet avait été mis en contact indirect avec un porcelet inoculé par voie oro-nasale. Le porcelet a présenté des signes cliniques deux heures après l'apparition des signes cliniques

du porcelet inoculé et les mêmes charges génomiques dans les fèces et sérum. Ces résultats démontrent une transmission horizontale de porc à porc très efficace.

Une étude de transmission du virus par voie aérienne a été conduite à l'Université du Minnesota, USA,(http://www.cvm.umn.edu/sdec/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@sdec/documents/content/cvm_content_474046.pdf). Dix porcelets de huit semaines d'âge ont été infectés par le vDEP. Des prélèvements d'air ont été réalisés pendant les trois premiers jours suivant l'infection dans les salles hébergeant les animaux. Tous les prélèvements se sont révélés positifs par RT-PCR en temps réel suggérant une possible transmission par voie aérienne. De plus, le génome viral a été détecté dans l'air jusqu'à 16 km d'élevages infectés (Poulin *et al.*, 2013).

La transmission du virus par voie vénérienne n'est pas connue à l'heure actuelle. Elle est néanmoins possible puisqu'une phase de virémie est observée au moins lors de primo-infection. Elle est également postulée par analogie avec le virus de la bronchite infectieuse, un gamma-coronavirus aviaire, dont on a démontré la transmission à la poule *via* l'insémination avec du sperme de coq contaminé (Gallardo *et al.*, 2011). Cette hypothèse est également supportée par la détection de génome viral dans les semences provenant de verrats infectés dans un centre d'insémination artificielle affecté par la DEP (Dufresne and Robbins, 2014). Cependant la possibilité d'une contamination croisée par des fèces lors de la collecte ou la préparation de la semence ne peut être exclue.

Résistance du virus

Le vDEP est stable à 4°C de pH 5 à 9, et à 37°C de pH 6,5 à 7,5 (Pospischil *et al.*, 2002). Il apparaît donc que le virus peut survivre dans des conditions de pH assez larges à température basse. Les désinfectants efficaces vis-à-vis du vDEP sont ceux contenant du phénol, du peroxygène, du chlore et ceux contenant de l'ammonium quaternaire et du glutaraldéhyde.

La persistance du virus a été étudiée dans différentes matrices à différentes températures et à des taux d'humidité relative différents (Goyal, 2014). Des fèces frais de porcs ont été ensemencés avec du vDEP puis stockés à 40, 50 et 60°C avec des taux d'humidité variant de 30, 50 à 70 %. Le vDEP était toujours infectieux jusqu'à sept jours à ces températures. Dans du lisier, le virus a persisté pendant vingt-huit jours (derniers temps de stockage testés) aux températures de 4°C et -20°C et pendant quatorze jours à 25°C. Dans l'eau de boisson, du vDEP infectieux a été détecté après une semaine de stockage à température ambiante (25°C) mais pas au-delà d'une semaine. Dans l'aliment humide (soupe) conservée à température ambiante, l'ARN du vDEP n'était pas dégradé jusqu'à vingt-huit jours de stockage. Par contre dans l'aliment sec, le virus n'a persisté qu'une semaine.

De même la résistance du virus à différents traitements de temps et de température a été testée en utilisant une suspension de lisier contaminé déposée sur un support métallique, traitée puis prélevée pour inoculer des porcelets (Université de l'Iowa). Seuls les traitements à 71°C pendant dix minutes et à 20°C pendant sept jours n'ont pas abouti à l'infection de porcelets. Par contre, les traitements de 54 ou 62°C pendant dix minutes, de 37°C pendant 12h ou de 20°C pendant 24h, n'ont pas permis d'éliminer le virus infectieux.

Transmission du vDEP par voie alimentaire

L'agence canadienne de l'inspection alimentaire (Canadian Food Inspection Agency (CFIA)) a annoncé en février 2014 que de l'ARN du virus de DEP avait été détecté dans des échantillons de plasma de porc en provenance des États-Unis, qui entrait dans la composition d'aliment porcelet premier âge. Les résultats en RT-PCR temps réel présentaient des Ct de valeur comprise entre 30 et 33 équivalent à 10^2-10^3 particules virales infectieuses (Nitikanchana, 2014). Les lots d'aliments mis en cause ont été retirés du marché. L'agence canadienne a alors émis l'hypothèse que l'alimentation pouvait contribuer à véhiculer le virus. Un bio-essai a ensuite été réalisé à l'université du Minnesota au cours duquel des porcelets ont été inoculés avec du plasma positif en RT-PCR pour la présence de vDEP. Les animaux ont été infectés. Par contre, lorsque les granulés utilisés en alimentation (de l'ordre de 5 à 10 % de plasma incorporé dans l'aliment (Gallois *et al.*, 2009) ont été distribués aux porcelets, aucun animal n'a présenté d'infection par le vDEP. Après le rappel des lots d'aliment pour porcelets et truies positifs pour la présence de vDEP, 190 sacs de plasma ont été prélevés et regroupés par dix pour être testés par RT-PCR temps réel. Les dix-neuf lots étaient positifs pour la présence d'ARN de vDEP. Les enquêtes réalisées par la suite en Ontario, Canada, sur les premiers élevages affectés par la DEP montrent que dix-huit de ces vingt premiers élevages étaient livrés par la même usine d'aliments ainsi que l'élevage atteint de DEP situé sur l'île du Prince Edouard.

Enfin, la possibilité de transmission du vDEP par voie alimentaire a été démontrée par un essai expérimental (Dee, 2014). Dans des élevages ayant des truies présentant des signes cliniques de DEP dans les vingt-quatre à quarante-huit heures après la livraison d'aliments, des prélèvements ont été effectués dans les silos stockant l'aliment à l'aide de chiffonnettes. L'ARN viral a pu être mis en évidence dans ces échantillons montrant que l'aliment pouvait être contaminé par le virus. L'aliment stocké dans les silos et positif pour la présence de vDEP a été mélangé à de l'aliment indemne de virus et utilisé en libre accès pour nourrir des porcelets en animalerie confinée. Les porcelets ont développé des signes cliniques de diarrhée et vomissement quatre jours après l'ingestion d'aliment. Ces travaux établissent que l'aliment peut être un véhicule d'introduction du vDEP dans des élevages indemnes.

Récemment, en mars 2014 aux États-Unis, un coronavirus différent du vDEP, appartenant au genre *Delta-coronavirus* a été isolé d'un élevage présentant une symptomatologie identique mais en l'absence d'autres agents pathogènes provoquant les mêmes signes cliniques (vDEP, vGET, rotavirus) et a diffusé assez largement dans la population porcine aux États-Unis (https://www.aasv.org/pedv/SECoV_weekly_report_140425.pdf). Cependant, un essai expérimental d'infection réalisé avec ce delta-coronavirus porcin (PDCoV) sur des porcelets de quatorze jours n'a pas permis de reproduire de signes cliniques ni de lésions, et aucun génome viral n'a pu être détecté par la suite dans les organes (University of Minnesota, http://www.cvm.umn.edu/sdec/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@sdec/documents/content/cvm_content_477786.pdf). Le rôle et l'importance de ce virus dans l'épizootie actuelle de DEP restent à investiguer.

Conclusion

L'épizootie majeure de DEP qui sévit actuellement dans plusieurs parties du monde (Amérique du Nord, Amérique latine, République Dominicaine, Japon, Chine, Corée du Sud, Vietnam) témoigne de la pathogénicité élevée des nouveaux variants de vDEP isolés en Amérique du Nord, de l'efficacité et de la rapidité de leur transmission. Les données physio-pathologiques sur ce nouveau variant de vDEP mettent en évidence une pathogénicité beaucoup plus importante que les virus de DEP circulant en Europe dans les années 1980. Les données épidémiologiques issues des différents pays touchés suggèrent une phase initiale de contamination quasi-simultanée de plusieurs élevages géographiquement distants avec dans le cas du Canada un lien épidémiologique correspondant à une origine commune de l'alimentation des porcs des différents élevages touchés initialement. Ces caractéristiques sont à relier à l'identification avérée du virus dans des plasmas incorporés à l'alimentation des porcs et aux particularités de résistance importante à différents traitements physiques.

L'autre particularité majeure de ce virus est la très faible dose infectieuse nécessaire et une résistance accrue à température basse, ce qui suggère une facilité de transport mécanique du virus *via* des véhicules animés ou non (camions, bottes…) et donc les difficultés rencontrées quant à la maîtrise de sa propagation même dans un contexte d'application de mesures d'hygiène et de biosécurité strictes.

Enfin, compte-tenu d'une immunité vraisemblablement transitoire chez les reproducteurs et d'une protection du porcelet essentiellement locale due au transfert d'immunoglobulines de la mère au porcelet, il ne semble pas s'installer une immunité de troupeau suffisante pour prévenir la réinfection des élevages. Les rechutes observées aux États-Unis dans des élevages précédemment touchés peuvent en partie s'expliquer par ce phénomène, auquel s'ajoute vraisemblablement une augmentation progressive d'une sous-population de reproducteurs sensibles *via* le jeu du renouvellement du troupeau. Dans ces conditions, l'épizootie observée dans ces différents pays pourrait s'installer durablement sous une forme plus enzootique permanente. Au niveau européen, l'immunité de population vis-à-vis du vDEP est faible comme le démontre une enquête indiquant une séroprévalence de moins de 10 % au Royaume-Uni (http://www.defra.gov.uk/ahvla-en/science/bact-food-safety/2013-pig-abattoir-study/ ; D. Armstrong, BPEX). Au regard du risque de propagation du virus en France, la DEP vient d'être ajoutée à la liste des dangers sanitaires de première catégorie pour les espèces animales faisant l'objet d'une émergence, en annexe I.b de l'arrêté du 29 juillet 2013. Cette décision a pour conséquence de rendre obligatoire la déclaration de tout cas apparaissant sur le sol français.

Références bibliographiques

Chasey, D., Cartwright, S.F., 1978. Virus-like particles associated with porcine epidemic diarrhoea. Res. Vet. Sci. 25, 255-256.

Coussement, W., Ducatelle, R., Debouck, P., Hoorens, J., 1982. Pathology of experimental CV777 coronavirus enteritis in piglets. I. Histological and histochemical study. Vet. Pathol. 19, 46-56.

Debouck, P., Pensaert, M., 1980. Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV 777. Am J Vet. Res. 41, 219-223.

Debouck, P., Pensaert, M., Coussement, W., 1981. The pathogenesis of an enteric infection in pigs experimentally induced by the coronavirus-like agent CV777. Vet. Microbiol. 6, 157-165.

Dee, S., 2014. Transmission of PEDV *via* feed: proof of concept.

Do, T.D., Nguyen, T.T., Suphasawatt, P., Roongroje, T., 2011. Genetic Characterization of Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) Isolates from Southern Vietnam during 2009-2010. Thai J Vet. Med. 41, 55-64.

Ducatelle, R., Coussement, W., Debouck, P., Hoorens, J., 1982. Pathology of experimental CV777 coronavirus enteritis in piglets. II. Electron microscopic study. Vet. Pathol. 19, 57-66.

Dufresne, L., Robbins, R. 2014. Field experience with porcine epidemic diarrhea. In: 2014 annual meeting of the American association of swine veterinarians, Dallas, Texas, USA, 1-4 March 2014, 613.

Gallardo, R.A., Hoerr, F.J., Berry, W.D., van Santen, V.L., Toro, H., 2011. Infectious bronchitis virus in testicles and venereal transmission. Avian Dis. 55, 255-258.

Gallois, M., Rothkotter, H.J., Bailey, M., Stokes, C.R., Oswald, I.P., 2009. Natural alternatives to in-feed antibiotics in pig production: can immunomodulators play a role? Animal 3, 1644-1661.

Goyal, S., 2014. PEDV research updates: Environmental stability of PED (porcine epidemic diarrhea virus). University of Minnesota, US National Pork Board.

Huang, Y.W., Dickerman, A.W., Pineyro, P., Li, L., Fang, L., Kiehne, R., Opriessnig, T., Meng, X.J., 2013. Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. mBio 4, e00737-00713.

Jung, K., Wang, Q., Scheuer, K.A., Lu, Z., Zhang, Y., Saif, L.J., 2014. Pathology of US porcine epidemic diarrhea virus strain PC21A in gnotobiotic pigs. Emerg. Inf. Dis. 20, 662-665.

Li, W., Li, H., Liu, Y., Pan, Y., Deng, F., Song, Y., Tang, X., He, Q., 2012. New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011. Emerg. Inf. Dis. 18, 1350-1353.

Masters, P.S., 2006. The molecular biology of coronaviruses. Advances in virus research 66, 193-292.

Nitikanchana, S., 2014. Potential Alternatives to Reduce Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) Contamination in Feed Ingredients, Kansa State Applied Swine Nutrition, Draft February 26, 2014.

Oldman, J., 1972. Letter to the editor. Pig farming Supplement Oct, 72-73.

Pensaert, M. 1989. Porcine epidemic diarrhea virus, In: Pensaert, M. (Ed.) Virus infections of porcines. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, 167-176.

Pensaert, M.B., de Bouck, P., 1978. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. Arch. Virol. 58, 243-247.

Pospischil, A., Hess, R.G., Bachmann, P.A., 1982. Morphology of intestinal changes in pigs experimentally infected with porcine rota-virus and two porcine corona viruses. Scand. J Gastroenterol.. Supplement 74, 167-169.

Pospischil, A., Stuedli, A., Kiupel, M., 2002. Update on porcine epidemic diarrhea. J. Swine Health Prod. 10, 81-85.

Poulin, M.C., Klopfenstein, C., Morin, M., 2013. Evaluation et gestion du risque d'introduction et de dispersion de la diarrhée épidémique porcine (DEP) au Québec. 1-70.

Rose, N., Grasland, B., 2014. Brève : Epizootie de diarrhée épidémique porcine (DEP) aux États-Unis et au Canada : question sur une éventuelle origine alimentaire. Bull. Epid. Santé Anim. Alim., 18.

Song, D., Park, B., 2012. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. Virus genes 44, 167-175.

Stevenson, G.W., Hoang, H., Schwartz, K.J., Burrough, E.R., Sun, D., Madson, D., Cooper, V.L., Pillatzki, A., Gauger, P., Schmitt, B.J., Koster, L.G., Killian, M.L., Yoon, K.J., 2013. Emergence of Porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 25, 649-654.

Brève. Peste porcine africaine : étude sérologique dans les abattoirs en Corse durant l'hiver 2014

Short item. African swine fever: serological survey in slaughterhouses in Corsica during winter 2014

Stéphanie Desvaux (1)(2) (stephanie.desvaux@agriculture.gouv.fr)*, Marie-Frédérique Le Potier (3), Olivier Bourry (3), Evelyne Hutet (3), Nicolas Rose (3), Gilles Anjoubault (4), Pierre Havet (5), Thomas Clément (1), Clara Marcé (2)*

* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé animale (Plateforme ESA)
(1) Direction régionale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt de Corse, Service régional de l'alimentation, Ajaccio, France
(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France
(3) Anses, Laboratoire national de référence pour la PPA, Ploufragan, France
(4) Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations, Service sécurité alimentaire et protection économique des consommateurs, Ajaccio, France
(5) Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations, Service sécurité alimentaire et protection économique des consommateurs, Bastia, France

Mots-clés : PPA, Corse, pestes porcines/*Key-words : ASF, Corsica, swine fever*

Du fait de la recrudescence des foyers de peste porcine africaine (PPA) en Sardaigne et de l'extension géographique de ces foyers en dehors de la région connue d'endémicité de la maladie (Décision n° 2011/852/UE du 15 décembre 2011, Arsevska *et al.,* 2014), la Direction générale de l'alimentation a décidé de mettre en œuvre un programme de renforcement de la surveillance et des actions de prévention en Corse. Dans le cadre de ce programme, une étude sérologique sur les porcs domestiques corses abattus dans les quatre abattoirs de l'île (Figure 1) a été mise en œuvre de février à mars 2014. L'objectif de cette étude était de confirmer l'absence de marqueur de présence du virus de la PPA dans la population de porcs domestiques passant à l'abattoir. La période de prélèvement a été décidée pour cibler les porcs élevés en Corse en libre parcours.

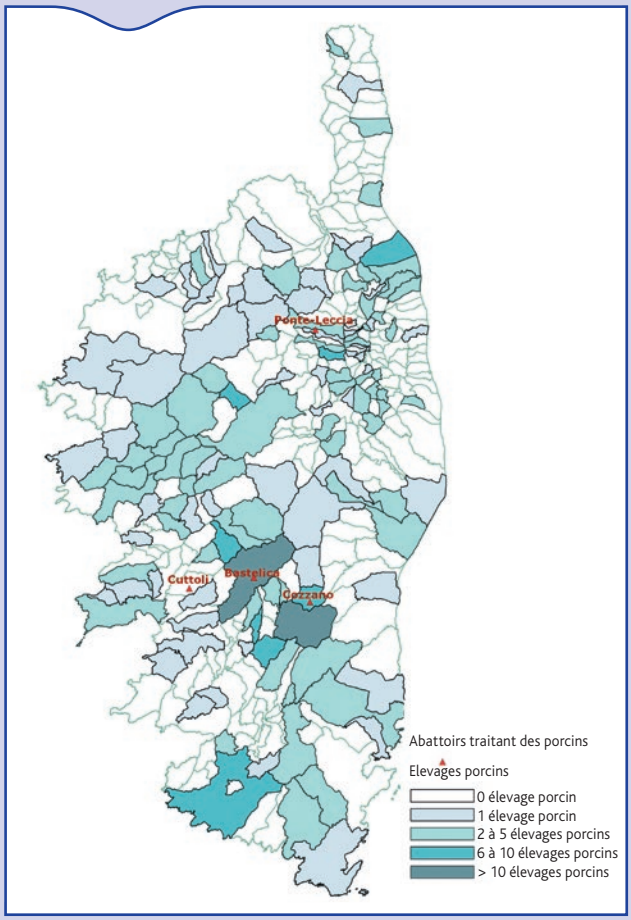

Figure 1. Distribution des élevages porcins et des abattoirs traitant des porcs domestiques en Corse (source SRAL Corse, janvier 2014)

Au total, 401 prélèvements ont été analysés sur environ 8 000 porcs abattus durant la période d'étude. La taille de l'échantillon était suffisante pour démontrer, avec une probabilité de 95 %, que la population était indemne de PPA au seuil limite de prévalence de 1 %, et pour tenir compte de l'agrégation des porcs au sein de lots d'origines différentes la taille d'échantillon a été multipliée par 1,5 environ. La répartition des échantillons entre les abattoirs a été définie en fonction du nombre d'élevages rattachés à chacun des abattoirs. L'organisation des prélèvements a ensuite été définie en fonction du nombre de porcs abattus dans une journée et de la taille moyenne des lots abattus avec un maximum de cinq porcs à prélever par lot et par jour de prélèvement, sous l'hypothèse d'une prévalence intra-cheptel de l'ordre de 10 à 20 % en cas de PPA dans un élevage extensif. Les jours de prélèvements ont été fixés de façon aléatoire.

Tous les sérums ont été testés négatifs au Laboratoire national de référence à l'aide d'un kit Elisa (Ingenasa COMPAC 1.1 PPA K3) selon le protocole recommandé par le producteur.

Seuls deux sérums ont dû être testés une seconde fois car ils présentaient initialement des résultats à la limite du seuil douteux. Tous les autres sérums étaient clairement négatifs.

En conclusion, l'étude menée a permis de démontrer l'absence de circulation actuelle de la maladie dans la population de porcs domestiques élevés en plein air et passant à l'abattoir. Cette étude a également été l'occasion de sensibiliser à nouveau les acteurs sur le risque de PPA en Corse.

Remerciements

Les auteurs remercient Olivier Fontana de la DDCSPP de Corse-du-Sud et Sidonie Lefèvre de la DDCSPP de Haute-Corse pour l'organisation et la réalisation des prélèvements.

Références bibliographiques

Anomyme, 2011. Décision d'exécution de la Commission 2011/852/UE du 15 décembre 2011 modifiant la décision 2005/363/CE relative à certaines mesures de police sanitaire de protection contre la Peste Porcine Africaine en Sardaigne (Italie) (http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?qid=1405693880642&uri=CELEX:32011D0852, consulté le 18 juillet 2014).

Arsevska, E., Calavas, D., Dominguez, M., Hendrikx, P., Lancelot, R., Lefrançois, T., Le Potier, M. F., Peiffer, B., Perrin, J. B. 2014. Peste porcine africaine en Sardaigne en 2014 – de l'enzootie à l'épizootie ? Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 61, 11-12.

Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *Bacillus cereus* producteurs d'entérotoxines

Sabrina Cadel Six (1) (sabrina.cadelsix@anses.fr), Sabine Herbin (1), Marie Léone Vignaud (1), Raphaël Chretien (1), Sabine Messio (1), Sylvie Pairaud (1), Line Prigent (2), Jacques-Antoine Hennekinne (1), Anne Brisabois (1)

(1) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Département Contaminants microbiologiques des aliments, Maisons-Alfort, France ;
(2) Direction départementale de la protection des populations des Côtes-d'Armor, Ploufragan, France.

Résumé

En juin 2012, une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *Bacillus cereus* a été déclarée dans une crèche à Guingamp, en Bretagne (département des Côtes d'Armor). Les repas consommés par les enfants ont été analysées et *Bacillus cereus* a été identifié comme le seul agent pathogène présent. Des purées de carotte et brocolis et de la compote d'abricot, associées à des mauvaises pratiques de préparation, ont été à la source de la contamination. Onze isolats provenant des différents aliments ont été caractérisés phénotypiquement et génétiquement. Les isolats étaient hautement producteurs d'entérotoxine non hémolytique (NHE) et ont été classés dans le groupe phylogénique III de *B. cereus sensu lato*.

Mots-clés

***Bacillus cereus*, toxi-infection alimentaire, entérotoxines, caractérisation phénotypique et génotypique**

Abstract

***A food poisoning outbreak investigation due to enterotoxin producing* Bacillus cereus**

***In June 2012, a food poisoning outbreak caused by* Bacillus cereus *was reported in a children's day care facility in Brittany, France. The meals consumed by the children were analysed and* Bacillus *was the only pathogen identified. Contaminated broccoli and carrot purees, apricot compote and poor cooking practices were found to be the cause of the outbreak. Eleven isolates from the different foods were phenotypically and genetically characterised. The isolates produced large quantities of non-hemolytic enterotoxin (NHE) and were attributed to the phylogenetic group III of* Bacillus cereus sensu lato.**

Keywords

Bacillus cereus, *food poisoning outbreak, enterotoxins, phenotypic and genotypic characterization*

Bacillus Cereus (B.cereus), bactérie sporulée, peut être à l'origine de deux types d'infections d'origine alimentaire chez l'Homme, généralement bénignes. Toutefois, des cas plus graves voire même mortels ont été décrits, dont deux en France (De Buyser *et al.*, 2008 ; Lund *et al.*, 2000). Le premier type d'infection, dont les symptômes sont principalement des diarrhées, survient entre huit et seize heures après l'ingestion de cellules végétatives ou de spores de *B. cereus* présentes dans l'aliment. Ces diarrhées sont suivies d'une production d'entérotoxines dans l'intestin grêle de l'hôte (Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Même si dans de rares cas des temps d'incubation plus longs ont été observées, la durée totale de la maladie est normalement de douze à vingt-quatre heures, avec une moyenne de vingt heures (Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Les signes cliniques et leur délai d'apparition peuvent être facilement confondus avec ceux liés à une toxi-infection à *Clostridium perfringens*. Les trois toxines retrouvées chez les isolats à l'origine des maladies diarrhéiques sont l'hémolysine BL (HBL), l'entérotoxine non hémolytique (NHE) et la cytotoxine K (cytK) (Logan, 2012). Le second type d'infection, plus grave, est caractérisé par des signes cliniques émétiques (nausées, vomissements) survenant une à six heures après ingestion de l'aliment contaminé. Cette symptomatologie est causée par l'ingestion d'une toxine, le céréulide (ces), préformée dans l'aliment lors de la croissance de *B. cereus*. Ce peptide très stable, codé par le gène *ces*, n'est inactivé ni par les procédés agro-alimentaires classiques ni par son passage dans le tractus digestif de l'Homme (Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Les signes cliniques et le délai d'apparition dus à l'ingestion du céréulide sont très proches de ceux provoqués par les entérotoxines staphylococciques.

Parmi les agents pathogènes à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) bactériennes en France depuis 2006, *B. cereus* se place en troisième position par ordre de fréquence. En 2012, cet agent pathogène a été mis en cause dans 218 foyers de TIAC, dont 9 % de foyers confirmés bactériologiquement, représentant 17 % des cas suspects (InVS). En France, un foyer confirmé à *B. cereus* se défini d'une part, par l'isolement de l'agent dans l'échantillon alimentaire suspecté, d'autre part, la concordance des données cliniques (signes cliniques, durée d'incubation) et épidémiologiques qui suggèrent une infection due à cet agent pathogène (Vaillant *et al.*, 2004). À l'inverse, lorsque l'agent pathogène n'est pas isolé, la suspicion est basée sur un algorithme d'orientation étiologique qui tient compte des signes cliniques, de la durée médiane d'incubation et du (des) type(s) d'aliments consommés.

Cette étude présente l'investigation d'une toxi-infection alimentaire collective à *B. cereus* survenue dans une crèche à Guingamp. L'étude menée repose sur une approche originale d'analyse qui combine les données épidémiologiques et les résultats obtenus avec plusieurs marqueurs phénotypiques et génotypiques.

Matériel et Méthodes

Données épidémiologiques

Toutes les données épidémiologiques (nombre de cas, signes cliniques, aliments suspectés) ont été recueillies au cours d'entretiens ou grâce à des questionnaires réalisés par l'autorité sanitaire locale (Tableau 1). La traçabilité des aliments suspectés a été réalisée par la direction départementale de la protection des populations (DDPP) des Côtes-d'Armor. Les aliments consommés par les enfants ont été recueillis et sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 1. Données épidémiologiques recueillies pour les huit cas

Nombre de cas	Âge des patients (mois)	Symptômes	Temps d'incubation (h)	Aliments suspects
3	3 à 18	Vomissements et diarrhée	16 h	Compote d'abricot
4	18 à 36	Vomissements et diarrhée	16 h	Compote d'abricot, purée de brocoli, purée de carotte, différents types de viande
1*	36	Vomissements	< 5 h	Compote d'abricot, purée de brocoli, purée de carotte, différents types de viande

*hospitalisation

Tableau 2. Échantillons soumis aux analyses de la flore aérobie mésophile, des coliformes thermo-tolérants, des staphylocoques à coagulase positive et des *Bacillus cereus* présomptifs. Tous les aliments avaient été conservés à 3°C, les prélèvements ont été réalisés le 18 juin 2012

Aliment	Date de préparation	Flore aérobie mésophile (cfu/g)	Coliformes thermotolérants à 44°C (cfu/g)	Staphylocoques coagulase positive (cfu/g)	*Bacillus cereus* presomptifs (cfu/g)
Blanc de poulet	14/06/2012	2.70E+08	< 10	< 10	< 100
Filet mignon	14/06/2012	< 30000	< 10	< 10	< 100
Bœuf	14/06/2012	< 30000	< 10	< 10	< 100
Carottes à la crème fraîche	14/06/2012	< 30000	< 10	< 10	< 100
Compote d'abricots	13/06/2012	< 30000	n.r.	< 10	700
Purée de brocolis	13/06/2012	< 30000	n.r.	< 10	3800
Purée de carottes	14/06/2012	< 30000	n.r.	< 10	100

Tableau 3. Résultats de la caractérisation phénotypique et génotypique de onze isolats de *Bacillus cereus*

Isolats	Caractérisation phénotypique					Caractérisation génotypique				Attribution phylogénique[a]
	Activité Lécithinase	Activité Hémolytique	Hydrolyse de l'amidon	Production de NHE (1 to 5)[b]	Production de HBL	*ces*	*cytK1 cytK2*	*hlyII*	*cspA*	*panC*
12CEB01BAC à 12CEB11BAC	+	+/-	-	5	-	-	-	-	-	Groupe III

a : selon Guinebretière *et al.*, 2008
b : score croissant de production de NHE

Dénombrement et isolement

Les échantillons prélevés ont été soumis à la recherche des bactéries aérobies mésophiles, des coliformes à 44°C, des staphylocoques à coagulase positive et de *B. cereus* présomptifs en appliquant, respectivement, les normes NF V08-051 (1999) et NF V08-100, la NF V 08 - 060, la NF EN ISO 6888-2 à 37 °C et la NF EN ISO 7932 à 30 °C. A la suite de ces analyses, onze isolats de *B. cereus*, cinq isolés de la compote d'abricot, cinq de la purée de brocoli et un de la purée de carotte, ont été envoyés au Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses pour leurs caractérisations phénotypique et génotypique (12CEB01BAC à 12CEB11BAC).

Caractérisation des souches bactériennes

Comme précédemment décrit (Cadel-Six *et al.*, 2012), la caractérisation phénotypique comprend l'aspect des colonies sur milieu de Mossel, l'hémolyse, le test d'hydrolyse de l'amidon et la production de deux entérotoxines diarrhéiques l'NHE et l'HBL. La caractérisation génotypique s'appuie sur la recherche par PCR des gènes de virulence *cytK1/cytK2* et *ces*, du gène *cspA*, marqueur de psychrotrophie comme précédemment décrit (Cadel-Six *et al.*, 2012). Le gène de virulence *hlyII* (impliqué dans la synthèse de l'hémolysine II) (Tran *et al.*, 2011) a également été recherché. Les isolats ont été classés dans les groupes phylogénétiques décrits par Guinebretière en 2008 sur la base du séquençage du gène *panC* (Guinebretiere *et al.*, 2008).

Résultats

Informations épidémiologiques

Le 15 juin 2012, une TIAC avec des signes cliniques gastro-intestinaux (vomissements et diarrhées) a été rapportée à la DDPP du département des Côtes d'Armor. Cette toxi-infection est survenue dans une crèche de Guingamp. Sur un total de vingt-quatre enfants, huit d'entre eux (33 %), âgés de trois à trente-six mois ont présentés après la consommation du repas du midi du 14 juin 2012, des signes cliniques tels que des nausées, des vomissements et/ou des crampes abdominales. L'un de ces enfants âgé de trente-six mois a présenté des signes cliniques immédiatement après la sieste qui succédait le repas de midi, alors que les symptômes des sept autres enfants se sont développés au domicile dans la soirée ou pendant la nuit du 14 juin. L'enfant ayant réagi le plus rapidement a dû être hospitalisé pendant plusieurs jours pour déshydratation. Pour l'ensemble des malades, les signes cliniques sont apparus entre cinq à seize heures après la consommation du repas. Les données épidémiologiques et les aliments soupçonnés sont récapitulés dans le Tableau 1. L'enquête épidémiologique suggérait la compote d'abricot comme étant la cause commune de l'infection car il s'agissait du seul aliment consommé par tous les cas.

Dénombrement, isolation et caractérisation des isolats de Bacillus cereus

Les résultats du dénombrement de chaque échantillon sont présentés dans le Tableau 2. Parmi les bactéries pathogènes recherchées, seul *B. cereus* a été détecté. Sur l'ensemble des produits alimentaires consommés, *B. cereus* a été isolé dans la compote d'abricot, la purée de brocoli et la purée de carotte. Le nombre de bactéries viables était relativement faible, respectivement 700, 3 800 et 100 cfu/g.

L'analyse des résultats obtenus avec les différents marqueurs a montré que les onze isolats partageaient le même profil phénotypique et génotypique (Tableau 3). La totalité des isolats présentait une activité lécithinase positive, et une activité hémolytique faible et était caractérisé par une forte production d'entérotoxine NHE. Les quatre gènes de virulence testés (*ces, cytK1, cytK2* et *hlyII*) et le marqueur de psychrotrophie (*cspA*) n'ont pas été détectés. D'après la classification de Guinebretière (Guinebretiere *et al.*, 2008), les isolats appartenaient tous au groupe phylogenique III de *B. cereus sensu lato*.

Discussion

En accord avec la DGAL, le Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses collecte depuis 2006, au niveau national, des isolats de *B. cereus* suspectés d'être impliqués dans des TIAC et retransmis par les laboratoires d'analyses agréés. Les isolats collectés sont systématiquement caractérisés phénotypiquement et génotypiquement et les renseignements épidémiologiques sont rassemblés dans l'objectif de construire une base de données, de faciliter l'investigation et d'identifier la variabilité des souches au sein de l'espèce *B. cereus*.

Dans cette étude, les analyses réalisées ont montré que *B. cereus* était l'agent responsable de la toxi-infection collective survenu à Guingamp. Parmi les huit enfants, seulement un seul, hospitalisé, a présenté des signes cliniques émétiques après une période d'incubation

Tableau 4. TIAC précédemment analysées et TIAC dans lesquelles les isolats présentent le même profil que celui identifié dans la présente étude

Numéro de la souche	Année	Aliment	Cellules/g	Nombre de cas	Lieu	Symptômes	Temps d'incubation	Autre agents pathogènes isolées dans le même échantillon
08CEB105BAC 08CEB106BAC	2008	Pâte	745 000	4 cas/12	Restaurant	Diarrhée et maux d'estomac	1 h	*Staphylococcus* (mais SEA-SEE non détectés)
08CEB115BAC	2008	Salade de riz	> 10 000 000	15 cas/56	Repas familial	Vomissements	1 h	*Staphylococcus*
09CEB23BAC 09CEB24BAC	2009	Bœuf hachée	1 900	7 cas/65	Maison de retraite	Vomissements et diarrhée	3 - 10 h	0
09CEB41BAC	2009	Ragoût de bœuf	6 400	11 cas/80	Maison de retraite	Vomissements et diarrhée sanglante	n.r.	*Clostridium perfringens*
10CEB68BAC*	2010	Purée de légumes	12 000	19 cas/143	Cantine d'un centre de rééducation physique et mental	Vomissements et diarrhée	n.r.	0
10CEB73BAC*	2010	Purée de pommes de terre						
10CEB79BAC	2010	Salade de riz	72 000 000	20 cas/n.r.	Repas familial	Vomissements et diarrhée	1 - 3 h	n.r.
12CEB01BAC à 12CEB11BAC	2012	Compote d'abricot, purée de brocolis, purée de carottes	100 à 3 800	8 cas/24	Crèche	Vomissements et diarrhée	5 - 16 h	0

n.r. : non renseigné.
*(Cadel-Six et al., 2012)

de cinq heures. Les sept autres ont présenté des signes cliniques émétiques aussi bien que diarrhéiques et des temps d'incubation plus longs. Les données cliniques (signes cliniques, durée d'incubation) et épidémiologiques suggéraient donc plutôt une infection due à *B. cereus* de type diarrhéique producteur d'entérotoxine. Les analyses phénotypiques et génotypiques des isolats ont confirmé cette hypothèse.

Les onze isolats, qu'ils proviennent de la compote d'abricot, de la purée de brocoli ou de la purée de carotte, partageaient exactement le même profil phénotypique et génétique. Ils ont montré une activité hémolytique faible sur l'agar Colombia, aucune production d'hémolysine BL et l'absence du gène codant l'hémolysine II. De plus, le gène codant le céréulide n'était pas présent. Les isolats ont présenté une forte production d'entérotoxine diarrhéique non-hémolytique (NHE) (score de 5 sur une échelle de 1 à 5).

Bien qu'un seul profil phénotypique et génotypique ait été identifié, nous ne pouvons pas cependant exclure l'hypothèse de la présence de plusieurs souches différentes de *Bacillus* contaminant les repas. En effet, les symptômes et les temps d'incubation observés pour l'enfant de trente-six mois, hospitalisé, pouvaient être en faveur d'une infection due à une souche de type émétique. Cependant, l'absence d'isolement de souches cliniques ne permet pas de confirmer l'hypothèse de la présence de telles souches de type émétique. Les sept autres enfants ont manifesté des réactions plus tardives et moins graves. Nous avons déjà souligné précédemment (Cadel-Six *et al.*, 2012) l'intérêt qu'il y aurait à rechercher les souches cliniques pour confirmer les TIAC étudiées. D'autre part, nous pourrions aussi expliquer les variations des signes cliniques et périodes d'incubation par une différence de sensibilité individuelle, par l'âge des enfants ou encore par la quantité d'aliments (c'est-à-dire le nombre de bactéries) ingérée.

Tous les isolats ont été classés dans le groupe phylogénique III (Guinebretiere *et al.*, 2008). Dans la littérature le groupe III est décrit comme un groupe rassemblant des souches de *B. cereus* mésotrophique, fortement virulentes et productrices de spores très résistantes. De nombreuses souches appartenant au groupe III ont été précédemment liées à des toxi-infections alimentaires (Claus and Berkeley, 1986 ; Guinebretiere *et al.*, 2008).

En raison de l'absence du gène *cpsA*, les isolats analysés dans cette toxi-infection alimentaire étaient certainement mésophiles avec des températures de croissance s'étendant de 15 à 45 °C. Le processus de préparation de la purée et de la compote d'abricot a probablement joué un rôle important dans la sélection et la prolifération des souches de *B. cereus* mésophiles appartenant au groupe III. Les valeurs particulièrement hautes de la flore aérobie mésophile identifiées dans les échantillons (Tableau 2) renforcent l'hypothèse que des pratiques d'hygiène insuffisantes, ainsi que des conditions de stockage inadaptées, ont été probablement responsables de la contamination croisée entre les aliments.

Le profil des onze isolats observé dans cette étude avait été précédemment identifié dans notre laboratoire (Cadel-Six *et al.*, 2012). Ces souches provenaient principalement de féculents, de viandes, de légumes ou de plats contenant de la viande, des pommes de terre et des légumes. Ce profil est peu fréquent au sein de notre collection (environ 5 %, soit 20 souches sur 429) et les renseignements épidémiologiques concernant ces souches sont hétérogènes et parfois non disponibles. La période d'incubation, quand elle est rapportée, peut être courte (de 1 à 10 heures) et les signes cliniques divers : maux d'estomac et diarrhée, vomissements seuls, vomissements avec des diarrhées et vomissements avec des diarrhées sanglantes (Tableau 4). Ces infections sont caractérisées par un nombre élevé de cellules par gramme d'aliment (72 000 000, > 10 000 000 et 745 000 cfu/g) dans le cas des repas servis au restaurant ou à l'issu de fêtes familiales (Tableau 4). Quand la charge infectieuse est moins importante (entre 1 900 et 12 000 cfu/g) les personnes atteintes sont soit très jeunes, soit âgées, ou encore immunodéprimées (pensionnaires de crèches, maisons de retraite ou de centre hospitalier). Ces caractéristiques correspondent à celles de l'étude présentée avec des charges infectieuses comprises entre 700 et 3 800 cfu/g d'aliment, des signes cliniques et des temps d'incubation variables. L'investigation conduite a donc permis de caractériser plus précisément la TIAC à *B. cereus* survenue à Guingamp. La comparaison du profil obtenu avec ceux recensés dans la base de données du laboratoire a permis de mettre en évidence l'existence d'un groupe de souches de *B. cereus* appartenant au groupe III provoquant une symptomatologie diarrhéique et émétique, et capables de provoquer une infection même avec de faibles doses.

Conclusion

L'étude menée repose sur une approche qui combine les données épidémiologiques et les résultats obtenus avec plusieurs marqueurs phénotypiques, génotypiques et phylogénétiques. Elle souligne l'intérêt et l'intérêt d'isoler les souches cliniques lors de TIAC, afin de comparer leurs caractéristiques phénotypiques et génotypiques aux souches

issues des aliments. Notre étude souligne aussi l'utilité de créer une base de données rassemblant les informations épidémiologiques avec les résultats de caractérisation des souches. Cette base de données permettant le suivi et la comparaison de souches dans le cadre d'investigation de TIAC notamment, permet également de dégager des tendances évolutives spatio-temporelles de cet agent pathogène et pourrait évoluer selon le format de la base de données Anses ACTEOLAB déjà en place pour *Salmonella* (Lailler *et al.*, 2014). Cette étude montre une fois de plus que des mauvaises pratiques d'hygiène et de stockage peuvent constituer un réel danger, en particulier pour des populations sensibles (Claus and Berkeley, 1986 ; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008).

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le Laboratoire de développement et d'analyse de Ploufragan pour les analyses réalisées dans les aliments et la transmission des isolats et la direction départementale pour la protection des populations des Côtes-d'Armor pour la transmission des données épidémiologiques.

Références bibliographiques

Cadel-Six, S., de Buyser, M.L., Vignaud, M.-L., Dao, T.T., Messio, S., Pairaud, S., Hennekine, J.A., Pihier, N., Brisabois, A., 2012. Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus* : bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010 Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 50, 57-61.

Claus, D., Berkeley, R.C.W. 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174AL, In: Sneath, P., Mair, N., Sharpe, M., Holt, J. (Eds.) Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1105-1139.

De Buyser, M., Guinebretière, M., Aujames, M., Schiaulini, M., Langlois, R., Galita, C., Pariente Khayat, A., Dao, T., Messio, S., Gagnier, S., Guignard, A., 2008. Investigation d'une TIAC en maison de retraite : un cocktail de *Bacillus cereus*. *Bulletin épidémiologique* Afssa-DGAL 27-28, 6-9.

Guinebretiere, M.H., Thompson, F.L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., Svensson, B., Sanchis, V., Nguyen-The, C., Heyndrickx, M., De Vos, P., 2008. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. Environ Microbiol 10, 851-865.

InVS. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives - Données de la déclaration obligatoire, 2012. In Données Tiac 2012

Lailler, R., Berta-Vanrullen, I., Aleaxandre, L.-Z., 2014. ACTEOLab-*Salmonella* : plus qu'une base de données du réseau *Salmonella* français, un outil au service de la surveillance des salmonelles d'origine non humaine. Euroreference 12, 21-23.

Logan, N.A., 2012. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. J Appl Microbiol 112, 417-429.

Lund, T., De Buyser, M.L., Granum, P.E., 2000. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. Mol Microbiol 38, 254-261.

Stenfors Arnesen, L.P., Fagerlund, A., Granum, P.E., 2008. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol Rev 32, 579-606.

Tran, S.L., Guillemet, E., Ngo-Camus, M., Clybouw, C., Puhar, A., Moris, A., Gohar, M., Lereclus, D., Ramarao, N., 2011. Haemolysin II is a *Bacillus cereus* virulence factor that induces apoptosis of macrophages. Cell Microbiol 13, 92-108.

Vaillant, V., de Valk, H., Baron, E. 2004. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France (InVS). http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf_origine_alimentaire/inf_origine_alimentaire.pdf.

Prévalence, facteurs associés et répartition spatiale de la cysticercose bovine en France en 2010 et perspectives en termes de surveillance épidémiologique

Céline Dupuy (1, 2), Claire Morlot (3, 6), Emmanuelle Gilot-Fromont (3, 4), Pierre Demont (3), Michel Mas (3, 5), Claude Grandmontagne (3), Pascale Gilli-Dunoyer (6), Christian Ducrot (2), Didier Calavas (1), Marie-Pierre Callait-Cardinal (3, 4), Emilie Gay (1) (emilie.gay@anses.fr)

(1) Anses, Laboratoire de Lyon, France
(2) Unité d'épidémiologie animale, UR346, Inra, St Genès Champanelle, France
(3) VetAgroSup Campus vétérinaire, Université de Lyon, Marcy l'Etoile, France
(4) Université de Lyon, CNRS, UMR5558, Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, Villeurbanne, France
(5) ENSV, VetAgroSup, Marcy L'Etoile, France
(6) Direction générale de l'alimentation, Bureau des établissements d'abattage et de découpe, Paris, France

Résumé

La cysticercose bovine est une zoonose d'origine alimentaire. L'Homme se contamine par la consommation de viande bovine crue ou mal cuite, contenant des cysticerques vivants de *Cysticercus bovis*. Les informations relatives à 4 564 065 bovins abattus en France en 2010 dans 181 abattoirs ont permis d'estimer la prévalence apparente de la cysticercose quel que soit son stade de développement à 0,142 % [0,142-0,143] et celle de la cysticercose à cysticerques vivants à 0,013 % [0,013-0,014]. En tenant compte de la sensibilité de détection à l'abattoir d'un animal atteint de cysticercose, la prévalence réelle de la cysticercose a pu être estimée à 1,23 % [0,83-1,93] et celle de la cysticercose à cysticerques vivants à 0,113 % [0,076-0,189].

L'âge et le sexe ont été identifiés comme des facteurs fortement associés à la prévalence. L'utilisation d'indicateurs épidémiologiques ajustés sur ces variables est donc nécessaire pour une comparaison directe entre différentes périodes de temps ou zones géographiques. Deux indicateurs épidémiologiques ont été proposés à cet effet : la prévalence standardisée et le taux standardisé de cysticercose (standardized cysticercosis rate, SCR).

La recherche de zones les plus à risque d'infestation est utile pour proposer des mesures correctives. Elle est délicate compte tenu du délai entre l'infestation d'un bovin et la détection des lésions à l'abattoir, particulièrement pour les lésions calcifiées. Une analyse spatiale à l'échelle du bovin-exploitation a permis d'inclure l'incertitude sur le lieu d'infestation et donc d'utiliser les informations relatives aux cas de cysticercose quel que soit le stade de développement. Des zones les plus à risque, non détectées lorsque seuls les cas à cysticerques vivants sont pris en compte, ont ainsi été identifiées.

Une inspection en abattoir basée sur le risque, notamment liée à des zones à risque plus élevé d'infestation, pourrait permettre d'augmenter l'efficience de la détection de la cysticercose et contribuer ainsi à diminuer la prévalence chez l'Homme. Des rapports conjoints entre le ministère en charge de l'agriculture et celui de la santé seraient un outil pertinent pour mettre en perspectives les données de santé humaine et animale concernant cette parasitose.

Mots-clés

Cysticercose, abattoir, bovin, prévalence, surveillance, *Taenia saginata*

Abstract

Prevalence, associated factors and spatial distribution of bovine cysticercosis in France in 2010 and perspectives for epidemiological surveillance.

Bovine cysticercosis is a zoonotic foodborne disease. Humans are infested by viable cysticerci of Cysticercus bovis *through the consumption of raw or undercooked meat. Data from 4,564,065 cattle slaughtered in France in 2010 in 181 slaughterhouses were used to estimate the apparent prevalence of bovine cysticercosis. Prevalence totaled 0.142% [0.142-0.143] when all levels of development were taken into account and 0.013% [0.0.13-0.014] when only viable cysticerci were taken into account. However, when meat inspection sensitivity was accounted for, the true prevalence of cysticercosis was estimated at 1.23% [0.83-1.93] and 0.113% [0.076-0.189] respectively.*

Age and sex were identified as the main factors influencing bovine cysticercosis prevalence. The use of adjusted epidemiological indicators on these factors is then necessary for direct comparisons between different time periods and geographical areas. Two epidemiological indicators were calculated: standardized prevalence and the standardized cysticercosis rate (SCR).

Identifying the geographical areas where animals have a high risk of being infested by cysticercosis is useful for implementing adequate control measures. This is a challenge however due to the time that elapses between the moment an animal becomes infested and the moment that lesions are detected at the slaughterhouse, especially in cases of calcified lesions. A spatial analysis at the animal-herd level was used to take into account the uncertainty of the location where the animal was infested and made it possible to use all cysticercosis cases regardless of their level of development. This enabled the identification of high risk areas that would not have been detected if only viable cysticercosis cases had been taken into account.

A risk-based meat inspection protocol based on high infection risk areas would improve the efficiency of cysticercosis detection and contribute to lowering human prevalence. Jointly-drafted reports by the Ministry of Agriculture and the Ministry of Health could be a useful tool to help compare human and animal health data regarding this disease.

Keywords

Cysticercosis, slaughterhouse, cattle, prevalence, surveillance, Taenia saginata

La cysticercose à *Cysticercus bovis* est une zoonose parasitaire impliquant le bovin comme hôte intermédiaire et l'Homme comme hôte définitif. Les bovins s'infestent principalement en s'alimentant sur des pâtures infestées par des œufs de *Cysticercus bovis*. Ceux-ci sont ensuite lysés dans le tube digestif du bovin, conduisant à la migration de larves dans les muscles où elles s'enkystent sous forme de vésicules (cysticerques). Les cysticerques restent vivants quelques mois puis se calcifient, au plus tard neuf mois après leur ingestion. L'Homme s'infeste lors de la consommation de viande crue ou mal cuite parasitée par des cysticerques vivants. Le processus de digestion va libérer le scolex dans l'intestin grêle de l'Homme qui se développera en deux ou trois mois en un ténia adulte de quatre à dix mètres de long (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000). La diffusion du parasite dans l'environnement, dont les pâtures, se produit essentiellement par épandage de boues de station d'épuration mal traitées (Cabaret *et al.*, 2002).

Cette parasitose est le plus souvent asymptomatique chez l'Homme et chez l'animal. Sa détection chez l'animal n'est à ce jour possible en routine que par l'inspection *post-mortem* (IPM) des carcasses à l'abattoir. L'existence de cas humains s'explique par la faible sensibilité de détection de la cysticercose à l'abattoir (Dupuy *et al.*, 2012).

Une carcasse atteinte fait l'objet, selon l'étendue des lésions, d'une saisie totale ou d'une saisie partielle associée à un traitement de la carcasse par le froid. La cysticercose a donc un impact économique important pour la filière bovine du fait des saisies et des traitements d'assainissement réalisés à l'abattoir. Cet impact peut être aggravé par la perte de confiance du consommateur vis-à-vis de la filière lorsqu'il est infesté.

Prévalence de la cysticercose bovine en France en 2010

Prévalence apparente et prévalence réelle

En 2010, le ministère en charge de l'agriculture a conduit une enquête dans les 221 abattoirs de bovins de France métropolitaine. Chaque abattoir devait notifier, en fin de semestre, tous les cas de cysticercose détectés suite à l'IPM effectuée conformément aux exigences communautaires (European Parliament, 2004). Pour chaque cas, l'étendue des lésions (cysticercose généralisée ou non) et le stade de développement des cysticerques (vivants ou calcifiés) étaient notamment précisés. Les données individuelles (sexe, âge, race) des bovins abattus en France en 2010 ont été extraites de la Base de données nationale d'identification (BDNI). Les informations relatives à la race ont permis de classer les bovins selon leur type de production (allaitant, laitier ou mixte) sur la base de la classification établie par FranceAgriMer (FranceAgriMer, 2011).

En 2010, 4 997 846 bovins ont été abattus dans l'un des 221 abattoirs français. Parmi eux, 181 ont répondu à l'enquête, dont 174 ont rendu les deux rapports semestriels, et sept uniquement un. Les données disponibles concernaient 4 564 217 bovins (91,3 % des bovins abattus en 2010) dont 6 589 présentaient des lésions de cysticercose. Après exclusion des bovins pour lesquels certaines données étaient manquantes vis-à-vis du sexe, de l'âge ou du type de production (n=152, 0,003 %), la population d'étude incluait 4 564 065 bovins. L'IPM a permis la détection d'au moins une lésion de cysticercose quel que soit son stade de développement pour 6 491 bovins, soit une prévalence apparente[1] de 0,142 % [0,142-0,143]. Parmi ces animaux infestés, 611 (9 %) présentaient au moins une lésion avec cysticerque vivant, soit une prévalence apparente de 0,013 % [0,013-0,014] (Dupuy *et al.*, 2014b).

À partir de la probabilité de détection d'un animal atteint de cysticercose à l'abattoir, estimée par l'Efsa par une méthode Delphi à 11,5 % [7,4-17,1] (Dupuy *et al.*, 2012), la prévalence réelle[2], quel que soit le stade de développement des cysticerques, a été estimée à 1,23 % [0,83-1,93]. La prévalence réelle de la cysticercose à cysticerques vivants a été estimée à 0,113 % [0,076-0,189].

Facteurs influençant la prévalence

Une analyse statistique par régression logistique multivariée a été conduite pour identifier d'une part les facteurs significativement associés à la présence de lésions à cysticerques vivants, et d'autre part à tout type de cysticerques. L'âge et le sexe étant corrélés, une variable combinée Âge-Sexe a été utilisée. Les facteurs significativement associés à la présence de cysticerques, quel que soit leur stade, étaient l'Âge-Sexe et le type de production. L'effet de l'Âge-Sexe (Odds ratio[3] (OR) compris entre 0,13 et 81,73 selon les modalités de cette variable, avec une tendance à l'augmentation avec l'âge) était beaucoup plus important que celui du type de production (OR compris entre 1,06 et 1,32) (Dupuy *et al.*, 2014a).

Selon la zone géographique (région mais surtout pays) et la période, les proportions de bovins abattus par âge, sexe et type de production varient. Ainsi, la prévalence de la cysticercose, qui est associée à ces variables, peut aussi fluctuer sans que ces variations soient liées à un véritable changement du taux d'infestation. Par exemple, une augmentation de la prévalence pourrait ainsi n'être liée qu'à une augmentation de la proportion de bovins âgés abattus. Il est donc plus pertinent de présenter des prévalences stratifiées sur ces variables plutôt qu'une valeur de prévalence globale qui ne serait valable que pour une population de bovins abattus, définie pour une période et dans une zone géographique donnée (Tableaux 1 et 2).

Afin de permettre une comparaison de la prévalence globale entre années ou entre pays, l'utilisation d'indicateurs ajustés sur l'âge et le sexe, qui sont des facteurs fortement associés à la présence ou non de cysticerques, est nécessaire. À cet effet, deux indicateurs épidémiologiques peuvent être utilisés : la prévalence standardisée de la cysticercose et le taux standardisé de cysticercose (standardized

Tableau 1. Prévalence apparente (%) de la cysticercose quel que soit le stade de développement selon le sexe, l'âge et le type de production des bovins [intervalle de confiance à 95 %]. Ces estimations sont basées sur la détection des lésions de cysticercose suite à l'IPM réalisée sur 4 564 065 bovins abattus en France en 2010

Âge	Type de production		
	Laitier	Mixte	Allaitant
Femelle < 8 mois	0 [0;0,03]	0 [0;0,02]	0,01 [0;0,01]
Mâle < 8 mois	0 [0;0]	0 [0;0,01]	0 [0;0]
Femelle 8-24 mois	0,25 [0,12;0,45]	0,1 [0,01;0,34]	0,06 [0,04;0,07]
Mâle 8-24 mois	0,06 [0,04;0,07]	0,07 [0,05;0,09]	0,04 [0,04;0,05]
Femelle 2-3.5 ans	0,27 [0,24;0,31]	0,32 [0,27;0,39]	0,28 [0,26;0,30]
Mâle 2-3.5 ans	0,33 [0,29;0,37]	0,49 [0,43;0,55]	0,3 [0,26;0,33]
Femelle 3.5-5 ans	0,28 [0,25;0,31]	0,34 [0,29;0,39]	0,3 [0,28;0,33]
Mâle 3.5-5 ans	0,32 [0,20;0,49]	0,51 [0,37;0,69]	0,33 [0,26;0,41]
Femelle 5-10 ans	0,21 [0,20;0,23]	0,25 [0,23;0,28]	0,28 [0,26;0,30]
Mâle 5-10 ans	0,84 [0,27;1,96]	0,54 [0,15;1,37]	0,15 [0,09;0,22]
Femelle ≥ 10 ans	0,19 [0,15;0,24]	0,18 [0,14;0,24]	0,21 [0,19;0,23]
Mâle ≥ 10 ans	0 [0;33,63]	4,76 [0,12;23,82]	0,12 [0,02;0,34]

Tableau 2. Prévalence apparente (%) de la cysticercose à cysticerques vivants selon le sexe, l'âge et le type de production des bovins [intervalle de confiance à 95 %]. Ces estimations sont basées sur la détection des lésions de cysticercose suite à l'IPM réalisée sur 4 564 065 bovins abattus en France en 2010

Âge	Type de production		
	Laitier	Mixte	Allaitant
Femelle < 8 mois	0 [0;0,03]	0 [0;0,02]	0 [0;0]
Mâle < 8 mois	0 [0;0]	0 [0;0]	0 [0;0]
Femelle 8-24 mois	0,05 [0,01;0,18]	0 [0;0,18]	0,01 [0;0,02]
Mâle 8-24 mois	0,01 [0,01;0,02]	0,02 [0,01;0,03]	0,01 [0,01;0,01]
Femelle 2-3.5 ans	0,01 [0,01;0,02]	0,03 [0,01;0,05]	0,02 [0,02;0,03]
Mâle 2-3.5 ans	0,02 [0,02;0,04]	0,05 [0,04;0,08]	0,03 [0,02;0,04]
Femelle 3.5-5 ans	0,02 [0,01;0,03]	0,03 [0,02;0,05]	0,03 [0,02;0,03]
Mâle 3.5-5 ans	0,05 [0,01;0,13]	0,04 [0,01;0,10]	0,03 [0,01;0,06]
Femelle 5-10 ans	0,01 [0,01;0,02]	0,03 [0,02;0,04]	0,02 [0,02;0,03]
Mâle 5-10 ans	0,17 [0;0,94]	0,13 [0;0,74]	0,01 [0;0,04]
Femelle ≥ 10 ans	0,03 [0,01;0,05]	0,04 [0,02;0,06]	0,02 [0,01;0,03]
Mâle ≥ 10 ans	0 [0;33,63]	4,76 [0,12;23,82]	0,08 [0,01;0,28]

(1) Nombre de bovins détectés avec au moins une lésion de cysticercose à l'abattoir/nombre total de bovins abattus. Les chiffres de prévalence sont présentés avec leur intervalle de confiance (IC) à 95 %
(2) La prévalence réelle a été calculée en divisant la prévalence apparente par la probabilité de détection de la cysticercose estimée par l'Efsa.
(3) L'OR peut ici être assimilé au risque relatif compte tenu de la faible prévalence de la cysticercose. Le risque relatif est une mesure du risque de survenue de la cysticercose dans un groupe par rapport à un autre, ici selon l'Âge-Sexe.

Encadré 1. Méthode de calcul de la prévalence standardisée de la cysticercose et du taux standardisé de cysticercose

La prévalence standardisée de la cysticercose est une prévalence ajustée sur la variable combinée Âge-Sexe par standardisation directe. La population des bovins abattus lors d'une période de temps et/ou une zone géographique donnée est définie comme la référence, et les données de populations de bovins abattus lors d'autres périodes de temps ou correspondant à d'autres zones géographiques sont ajustées par pondération sur la distribution des bovins abattus pendant la période et/ou la zone géographique de référence.

Le taux standardisé de cysticercose est construit par standardisation indirecte en utilisant le même principe que pour le taux de mortalité standardisé (Bouyer *et al.*, 2009; Breslow and Day, 1980, 1987). La population des bovins abattus lors d'une période de temps et/ou une zone géographique est définie comme la référence et la distribution de la population vis-à-vis de l'Âge-Sexe dans cette période de temps ou zone géographique est utilisée pour estimer le nombre attendu de bovins présentant des lésions de cysticercose pour une autre période de temps ou autre zone géographique. Le nombre attendu de bovins présentant des lésions de cysticercose est obtenu en multipliant, pour chaque modalité de la variable Âge-Sexe, le nombre de bovins observé présentant des lésions de cysticercose pendant la période ou zone géographique de référence par le rapport entre le nombre de bovins abattus pendant la période à comparer et celle de référence (ou la zone géographique à comparer et celle de référence). Le taux standardisé est ensuite défini comme le rapport entre le nombre observé de bovins avec une lésion de cysticercose divisé par le nombre attendu de bovins présentant des lésions de cysticercose. Un test permet de déterminer si ce taux est significativement différent de 1, c'est-à-dire si une différence significative existe entre les deux périodes ou les deux zones géographiques.

Encadré 2. Méthode pour la prise en compte de l'incertitude liée au lieu d'infestation

Pour conduire une analyse à l'échelle du bovin-exploitation, les mouvements des bovins doivent être connus de leur naissance à l'abattoir. Le parcours de chaque bovin de sa naissance à son abattage a été reconstitué à partir des données de la BDNI. Une probabilité d'infestation a alors été calculée dans chaque élevage où le bovin a séjourné. Des probabilités à l'échelle du bovin-exploitation ont ainsi été attribuées à chaque bovin ayant présenté des lésions de cysticercose détectées en abattoir. La somme de ces probabilités était égale à 1 pour chaque bovin. Ainsi un animal né dans une exploitation A puis vendu à une exploitation B avant de partir à l'abattoir était représenté sous la forme de deux bovin-exploitations avec des probabilités P_A et P_B d'avoir été infestées dans l'exploitation A et B respectivement. P_A et P_B étaient proportionnelles au temps passé dans chaque exploitation et au risque relatif d'infestation dans cette période de vie. Ce risque a été estimé en fonction d'une revue de littérature sur les connaissances en termes d'évolution des lésions de cysticercose (Dupuy *et al.*, 2015).

cysticercosis rate, SCR) (Dupuy *et al.*, 2014a) (Encadré 1). Ces deux indicateurs sont complémentaires, le premier permet de comparer directement deux prévalences préalablement ajustées sur l'âge et le sexe, et le deuxième de quantifier et tester la différence existant entre ces prévalences sur le même principe qu'un risque relatif.

Perspectives pour le suivi épidémiologique

Par la mise en place, dès 2014, de la base de données SI2A (Système d'information de l'inspection en abattoir) dans tous les abattoirs bovins en France, les données relatives aux bovins détectés avec des lésions de cysticercose seront accessibles en routine. Un rapport annuel de suivi de cette parasitose pourrait ainsi présenter la prévalence apparente de la cysticercose pour l'année considérée (l'échelle annuelle semble la plus pertinente compte tenu de l'évolution lente des lésions de cysticercose du stade vivant au stade calcifié). Il contiendrait également les valeurs des deux indicateurs épidémiologiques ajustés sur l'âge et le sexe pour permettre une comparaison directe des données d'une année sur l'autre, et d'un pays à l'autre si des données similaires sont disponibles dans d'autres pays.

Identification de zones à risque plus élevé de cysticercose

Étude à partir des données de l'enquête de 2010

L'identification de zones à risque plus élevé de cysticercose, c'est-à-dire de zones où les bovins ont une plus forte probabilité d'être infestés, est importante. Elle permettrait d'une part la mise en œuvre de mesures correctives limitant l'infestation et d'autre part l'amélioration des performances de détection des carcasses infestées à l'abattoir grâce à une inspection renforcée basée sur le risque, c'est-à-dire une inspection approfondie des animaux issus de zones à risque (augmentation du nombre de coupes musculaires, utilisation de tests ELISA (Dorny *et al.*, 2000)).

Il est particulièrement délicat de déterminer le moment, et donc le lieu, où un bovin a été infesté, à partir du moment où les lésions sont observées à l'abattoir. Le schéma d'évolution des cysticerques dans les muscles bovins est en effet complexe, avec des cysticerques qui passent en quelques mois d'un stade vivant à un stade calcifié. Par ailleurs, certains bovins changent d'exploitation entre leur naissance à leur abattage: en France, 26 % des bovins ayant présenté une lésion de cysticercose à l'abattoir en 2010 étaient passés par au moins deux exploitations différentes avant leur abattage avec un maximum de neuf exploitations différentes. Ceci pourrait conduire à restreindre l'étude aux cas à cysticerques vivants pour lesquels le lieu d'infestation peut être plus facilement estimé avec une perte d'information conséquente (90 % des lésions détectées sont à cysticerques calcifiés).

Une méthode d'analyse spatiale permettant de prendre en compte à la fois les bovins avec des lésions à cysticerques vivants et ceux à cysticerques calcifiés, en tenant compte de l'incertitude du lieu d'infestation a été développée (Dupuy *et al.*, 2015). L'analyse a été conduite à l'échelle du bovin-exploitation (Encadré 2).

Une recherche de clusters (zones à risque d'infestation plus élevé) a été conduite sur les données de l'enquête de 2010, en utilisant la méthode de spatial scan statistic de Kulldorff (logiciel SatScan v9.9.1) avec un modèle de Poisson ajusté sur l'âge et le sexe. La population de cas était la somme des bovins-exploitations (voir Encadré 2) agrégés par commune, et la population sous-jacente le nombre de bovins abattus en 2010 par commune de leur dernière exploitation.

Deux analyses distinctes ont été conduites: une première ne prenant en compte que les bovins avec des lésions à cysticerques vivants et une seconde incluant tous les bovins présentant des lésions quel que soit le stade de développement. La première a mis en évidence un cluster (risque relatif (RR)=2,3) localisé dans l'Est de la France (Figure 1) et la seconde, trois clusters (RR entre 1,6 et 2) dans le Nord-Ouest de la France et en région charolaise (Figure 2). Des études complémentaires devront être conduites pour identifier les facteurs pouvant expliquer ces différences géographiques (facteurs climatiques, mauvaises pratiques lors de l'épandage de boues de stations d'épuration...).

Perspectives en termes de suivi épidémiologique

Cette étude a montré que la prise en compte de l'ensemble des cas de cysticercose (à cysticerques vivants et calcifiés) permet de mettre en évidence des regroupements géographiques de cas, non identifiés par la seule prise en compte des cas à cysticerques vivants. La proportion de bovins présentant des lésions à cysticerques vivants dans les clusters identifiés donne une indication sur l'ancienneté de l'infestation: une proportion élevée signe une zone d'infestation récente et pouvant encore potentiellement infester des bovins. Les zones à risque pourraient faire l'objet d'investigations, afin de déterminer les facteurs de risque liés à l'infestation des bovins (facteurs de risque à l'échelle de l'élevage, facteurs climatiques, environnementaux, ...) et mettre en place les mesures correctives *ad hoc*. Un suivi des mesures mises en place pourrait ensuite être conduit par le suivi de l'évolution des clusters de cas. Les zones assainies devraient contenir de moins en moins de cas à cysticerques vivants avant de disparaître totalement.

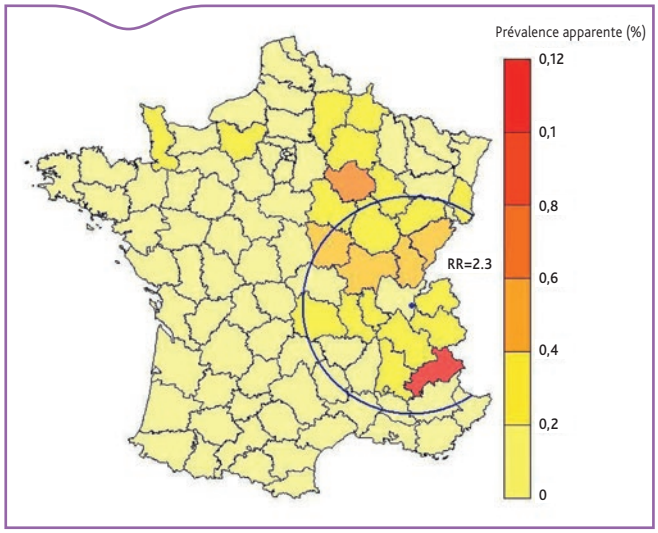

Figure 1. Prévalence apparente (%) de la cysticercose bovine par département (avec cysticerques vivants uniquement) et clusters significatifs de zones d'infestation plus élevée de bovins présentant des lésions à cysticerques vivants à l'abattoir. RR= risque relatif

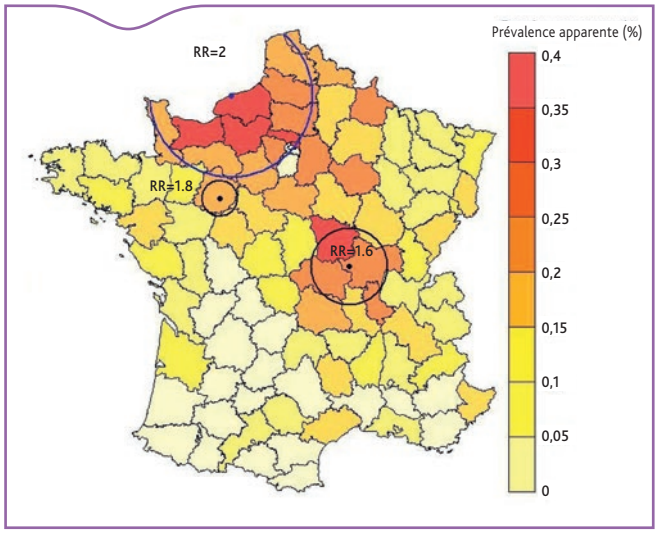

Figure 2. Prévalence apparente (%) de la cysticercose bovine par département (avec cysticerques vivants ou calcifiés) et clusters significatifs de zones d'infestation plus élevée de bovins présentant des lésions à cysticerques vivants ou calcifiés à l'abattoir. RR= risque relatif

Dans un contexte de restriction budgétaire, l'amélioration de l'efficience de l'inspection en abattoir est fortement recherchée. Une des pistes envisagée est le passage à une inspection uniquement visuelle, mais cela n'est pas satisfaisant pour la cysticercose car cela entraînerait une baisse trop importante de la sensibilité de l'inspection en abattoir (Hill *et al.*, 2014). Une inspection basée sur le risque semble par contre une approche intéressante. À cet effet, selon les facteurs de risque identifiés notamment à l'échelle de l'élevage, des informations sur la chaîne alimentaire (ICA) pertinentes pourraient être déterminées afin de faire passer l'information de l'élevage à l'abattoir. Les bovins provenant d'élevages à risque feraient alors l'objet d'une inspection plus approfondie.

Lien entre santé animale et santé humaine

La prévalence réelle des bovins ayant au moins une lésion à cysticerques vivants a été estimée, par notre étude, à 0,113 % [0,076-0,189]. Ceci a permis d'estimer que, pour la totalité des bovins abattus en 2010 (n= 4 997 846), le nombre de carcasses réellement infestées par des cysticerques vivants serait en fait compris entre 3 887 et 9 118. Parmi celles-ci, seules 665 à 675 auraient été détectées par l'IPM si on tient compte de la sensibilité de détection estimée par l'Efsa. De ce fait, le nombre de carcasses infestées par des cysticerques vivants passant dans le circuit de consommation a pu être estimé entre 3 212 et 8 452 sur une période d'une année.

Une étude conduite par l'InVS basée sur le nombre de boîtes de niclosamide (traitement antiparasitaire contre le ver solitaire) remboursées par la Sécurité sociale en 1999 et 2000 a permis d'estimer la prévalence annuelle moyenne de la cysticercose humaine à 0,11 % (Institut national de veille sanitaire, 2003). Considérant cette valeur, on peut aussi estimer grossièrement qu'une carcasse présentant des lésions avec des cysticerques vivants pourrait infester entre 8 et 20 personnes. Cette estimation fait toutefois l'hypothèse que toutes les personnes infestées par ce parasite l'ont été par consommation de viande issue de bovins abattus en France. En France, environ 75 % de la viande bovine consommée est d'origine française, un peu moins du quart d'origine européenne (principalement Pays-Bas, Allemagne, Irlande et Italie) et une faible partie (1,2 %) en provenance de pays tiers (Brésil, Uruguay) (Agreste, 2011). Pour les pays tiers, la très grande majorité (90 %) de la viande importée est congelée et ne peut donc pas être à l'origine de cas de cysticercose (FranceAgriMer, 2012). Compte tenu de ces données, le biais peut être considéré comme limité.

La prévalence de la cysticercose humaine est plus délicate à estimer que la prévalence bovine, mais un suivi *via* les ventes de médicaments traitant cette infestation pourrait être mené par l'InVS. La mise en perspective des données de santé humaine et vétérinaire *via* l'édition d'un rapport annuel conjoint entre le ministère en charge de l'agriculture et celui de la santé pourrait rapidement être mise en œuvre. Cela permettrait de quantifier les effets d'éventuelles mesures de prévention et de lutte.

Conclusion

Les données d'abattoir constituent actuellement le seul moyen de surveillance possible en routine de la cysticercose bovine. Compte tenu de l'importance de l'effet de l'âge et du sexe sur la prévalence de la cysticercose lors de l'IPM, l'utilisation d'indicateurs ajustés sur ces variables est nécessaire pour le suivi épidémiologique de cette parasitose.

L'amélioration de la sensibilité de l'IPM est indispensable pour augmenter l'efficience de la surveillance. À cet effet, une inspection basée sur le risque peut être envisagée. Son principe consiste à identifier des exploitations ou des bovins à risque plus élevé (par ex. en provenance de zones à risque d'infestation élevé), pour lesquels une inspection approfondie serait mise en œuvre. Améliorer la détection de la cysticercose en abattoir est particulièrement pertinent en France. En effet, la principale mesure de prévention consiste à conseiller une cuisson à cœur de la viande, ce qui est délicat à appliquer en raison des habitudes alimentaires françaises (forte consommation de viande de bœuf saignante voire crue).

Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier le ministère en charge de l'agriculture pour le financement de cette étude et l'accès aux données.

Références bibliographiques

Agreste 2011. Le Mercosur, source dominante des importations européennes de viande bovine. In Agreste conjoncture, Ministère de l'agriculture et de la pêche, ed. (Montreuil-sous-Bois, Ministère de l'agriculture et de la pêche,), 5.

Bouyer, J., Hémon, D., Cordier, S., Derriennic, F., Stücker, I., Stengel, B., Clavel, J., 2009. Epidémiologie, Principes et méthodes quantitatives, Tec et Doc Edition, Paris, 498 p.

Breslow, N., Day, N. 1980. Fundamental measures of disease occurence and association, In: research, S.m.i.c. (Ed.) IARC scientific publications N°.32. International agency for research on cancer, Lyon, 42-81.

Breslow, N., Day, N. 1987. Rates and rate standardization, In: Statistical methods in cancer research (Ed.) IARC scientific publications N°.82. International agency for research on cancer, Lyon, 48-79.

Cabaret, J., Geerts, S., Madeline, M., Ballandonne, C., Barbier, D., 2002. The use of urban sewage sludge on pastures: the cysticercosis threat. Vet. Res. 33, 575-597.

Dorny, P., Vercammen, F., Brandt, J., Vansteenkiste, W., Berkvens, D., Geerts, S., 2000. Sero-epidemiological study of Taenia saginata cysticercosis in Belgian cattle. Vet. Parasitol. 88, 43-49.

Dupuy, C., Hendrikx, P., Hardstaff, J., Lindberg, A. 2012. Contribution of meat inspection to animal health surveillance in Bovine animals, EFSA, ed. (European Food Safety Authority), 53.

Dupuy, C., Morlot, C., Demont, P., Ducrot, C., Calavas, D., Callait-Cardinal, M.-P., Gay, E., 2014a. Construction of standardized surveillance indicators for bovine cysticercosis. Preventive Veterinary Medicine, 115, 288-292.

Dupuy, C., Morlot, C., Gilot-Fromont, E., Mas, M., Grandmontagne, C., Gilli-Dunoyer, P., Gay, E., Callait-Cardinal, M.-P., 2014b. Prevalence of *Taenia saginata* cysticercosis in French cattle in 2010. Veterinary Parasitology, 203, 65-72.

Dupuy, C., Morlot, C., Demont, P., Callait-Cardinal, M.-P., Ducrot, C., Calavas, D., Gay, E., 2015. Spatial analysis of bovine cyticercosis in France in 2010. Food Control, 47, 348-352.

European Parliament 2004. Council Regulation laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption. In 854/2004 (Official Journal of the European Union), 83-127.

FranceAgriMer 2011. Liste, codes et types des races bovines de France, France AgriMer, ed. (Montreuil sous Bois, France AgriMer,), http://www.franceagrimer.fr/content/download/8682/55092/file/races-bovines-v03.pdf.

FranceAgriMer 2012. Le commerce international de la viande bovine: Vers une stabilisation des échanges? In Les synthèses de FranceAgriMer, FranceAgriMer, ed. (Montreuil-sous-Bois, FranceAgriMer), 16.

Hill, A.A., Horigan, V., Clarke, K.A., Dewé, T.C.M., Stärk, K.D.C., O'Brien, S., Buncic, S., 2014. A qualitative risk assessment for visual-only *post-mortem* meat inspection of cattle, sheep, goats and farmed/wild deer. Food Control 38, 96-103.

Institut national de veille sanitaire 2003. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France (INVS), 192.

Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health 2000. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary relating to Measures to Public Health on the Control of taeniosis/cysticercosis in man and animals, European Commission, ed., 31.

Brève. Fièvre aphteuse en Tunisie
Short item. Foot-and-mouth in Tunisia

Gina Zanella (gina.zanella@anses.fr) (1), Sévérine Rautureau (2), Labib Bakkali (3)

(1) Anses, Laboratoire de santé animale, Unité d'épidémiologie, Maisons-Alfort, France
(2) DGAL, Bureau de la santé animale, Paris, France
(3) Anses, Laboratoire de santé animale, Laboratoire national de référence fièvre aphteuse, Maisons-Alfort, France

Mots-clés : Tunisie, fièvre aphteuse, épidémiologie/*Keywords: Tunisia, Foot-and-mouth disease, epidemiology*

La fièvre aphteuse est une maladie animale virale transfrontalière hautement contagieuse qui affecte les artiodactyles domestiques et sauvages (principalement bovins, ovins, caprins, porcins) (Grubman et Baxt, 2004). C'est une maladie à déclaration obligatoire dont l'impact socio-économique en cas d'épizootie peut être extrêmement important dans les pays indemnes, notamment en raison des pertes commerciales liées à l'embargo sur l'exportation d'animaux et des produits dérivés. L'agent responsable est un virus du genre *Aphthovirus*, famille des *Picornaviridae*. Il existe sept sérotypes immunologiquement distincts : O, A, C, Asia 1, SAT 1, SAT 2 et SAT 3.

Les pays de l'Amérique du Nord, de l'Amérique centrale et de l'Europe ont été reconnus indemnes de fièvre aphteuse sans vaccination par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (OIE, 2014a). La maladie reste enzootique dans certaines parties de l'Asie, de l'Afrique et du Moyen-Orient (Zanella *et al.*, 2014). En Amérique du Sud, seul le Vénézuela est considéré comme infecté.

Dans les pays du nord de l'Afrique, seuls le Maroc, l'Algérie et la Tunisie ne signalaient pas de foyers de fièvre aphteuse depuis 1999, tandis qu'en Égypte et Libye des foyers étaient signalés régulièrement avec une circulation de trois sérotypes O, A et SAT2. Cette situation a changé en avril 2014 lorsqu'un foyer a été déclaré dans le gouvernorat de Nabeul au Nord-est de la Tunisie. D'après les rapports de l'OIE, le 20 avril 2014 deux animaux de statut sanitaire inconnu ont été introduits dans une ferme de dix-sept bovins (OIE, 2014b). Entre cette date et jusqu'au 21 juillet 2014, 114 foyers ont été détectés dans tout le pays (Figure 1). Le laboratoire mondial de référence pour la fièvre aphteuse basé à Pirbright (Royaume-Uni) a caractérisé le virus impliqué dans ces foyers comme appartenant au lignage O/ME-SA/Ind-2001. Ce lignage, qui était restreint au sous-continent indien, a causé des foyers en Libye entre août et septembre 2013. Depuis cette date il est fort probable que cette souche ait circulé dans ce pays ; son isolement en Tunisie a permis de le confirmer.

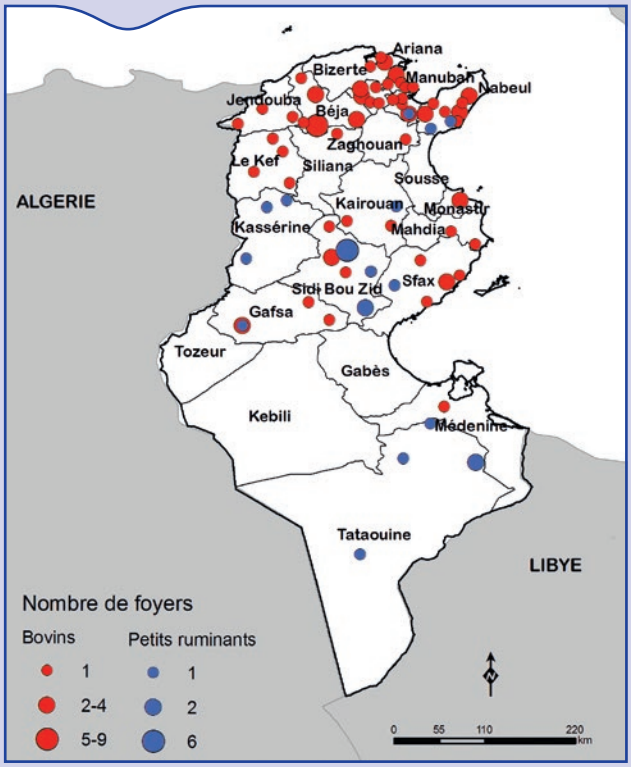

Figure 1. Nombre de foyers incidents de fièvre aphteuse déclarés en Tunisie entre le 25 avril 2014 et le 21 juillet 2014* par espèce prédominante dans l'élevage (OIE, 2014b)

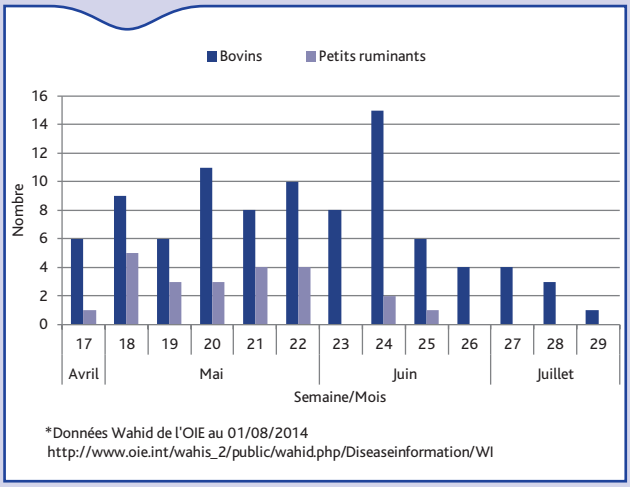

Figure 2. Foyers incidents de fièvre aphteuse en Tunisie entre le 25 avril 2014 et le 21 juillet 2014 par espèce prédominante dans l'élevage (source OIE)

Une semaine après le premier rapport, des foyers ont été signalés dans un gouvernorat limitrophe à l'Algérie et dans le centre du pays. Trois mois après, dix-neuf gouvernorats étaient atteints. Un total de 2 067 bovins et de 6 148 petits ruminants étaient détenus dans les élevages où les foyers ont été confirmés. Quatre-vingt-onze foyers ont été déclarés dans des élevages où les bovins étaient la seule espèce présente ou prédominante (des ovins ou caprins pouvaient être aussi présents) (Figure 2). Il est intéressant de constater que vingt-trois foyers ont été signalés dans des élevages qui détenaient uniquement des petits ruminants (Figure 2). En effet, l'expression des signes cliniques de la fièvre aphteuse chez les petits ruminants est fruste, voire absente, et de ce fait les mouvements de ces espèces peuvent jouer un rôle important dans la propagation de la maladie comme cela a été le cas lors de l'épizootie de 2001 au Royaume-Uni (Scudamore et Harris, 2002).

La Tunisie pratiquait la vaccination chez les bovins contre les sérotypes O, A et SAT2 et chez les petits ruminants contre les sérotypes O et SAT2. La couverture vaccinale pour la campagne 2013 était estimée à 79 % pour les bovins et 68 % pour les petits ruminants (EUFMD, 2014). L'antigène protégeant contre le lignage circulant en Libye était inclus dans le vaccin utilisé (vaccin Mérial O Manisa/O 3039).

Immédiatement, suite à l'identification du foyer, des mesures de contrôle ont été prises :

- dans les sites infectés :
  - abattage des animaux infectés malades et enfouissement,
  - vaccination des animaux contacts du site et dans un rayon de 5 km,
  - désinfection des véhicules,
  - interdiction des mouvements d'animaux,
  - investigation épidémiologique visant à déterminer l'origine de l'infection.
- au niveau national :
  - activation des cellules de crise nationale et régionales et activation du plan de communication,
  - désinfection des véhicules à la sortie des gouvernorats touchés,
  - postes de vaccination des espèces sensibles aux entrées des marchés aux bestiaux et renforcement de la vaccination dans les élevages (ceux de grande taille sont privilégiés),
  - restriction des déplacements à l'intérieur du pays.

Une couverture vaccinale insuffisante et/ou la circulation de la maladie chez les jeunes animaux (la vaccination n'étant pratiquée que chez les animaux de plus de 6 mois chez les bovins) sont des hypothèses pouvant expliquer l'extension de la maladie dans le pays.

L'Algérie et le Maroc, après avoir fermé leur frontière à la Tunisie ont mis une pression maximale sur la prévention des mouvements illégaux et sur la surveillance clinique la plus précoce possible par sensibilisation des acteurs. Malgré cela, le 28 juillet 2014, l'Algérie déclarait son premier foyer, dont l'origine a été attribuée à l'introduction illégale d'animaux en provenance de la Tunisie, et fait face à une extension de l'épizootie sur une partie de son territoire.

L'apparition de la fièvre aphteuse en Tunisie et sa propagation à l'Algérie, où plusieurs wilayas commencent à être atteintes, confirment à nouveau le rôle des mouvements d'animaux dans la diffusion de la maladie et l'importance de l'organisation des filières et des intérêts économiques en jeu. Cette situation mérite d'être suivie de près car elle constitue une menace sérieuse pour l'Europe.

Références bibliographiques

Grubman M.J., Baxt B. 2004. Foot-and-Mouth Disease. Clinical Microbiology Reviews, Apr. 2004, p. 465–493.

EUFMD Monthly report, European Commission for the control of foot and mouth disease, FAO. April, 2014.

OIE, 2014a. Liste des Pays Membres indemnes de fièvre aphteuse [WWW Document]. URL http://www.oie.int/fr/sante-animale-dans-le-monde/statuts-officiels-des-maladies/fievre-aphteuse/liste-des-membres-indemnes-de-fievre-aphteuse/ (consulté le 1er août 2014).

OIE, 2014b. Wahid Interface. Weekly disease information. URL http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI (consulté le 1er août 2014)

Scudamore J.M., Harris DM. 2002. Control of foot and mouth disease: lessons from the experience of the outbreak in Great Britain in 2001. Rev. Sci. Tech. 2002 Dec;21(3):699-710.

World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (WRLFMD), Genotyping Report (Report date 26 May 2014).

Zanella G., Bakkali L., Zientara S. 2014. Faits marquants récents sur la fièvre aphteuse dans le monde en 2013 et 2014. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 62, 20.

Développement d'une veille sanitaire internationale en santé animale dans le cadre de la Plateforme ESA

Elena Arsevka (1)* (elena.arsevska@cirad.fr), Morgane Dominguez (2)*, Bruno Peiffer (3), Jean-Baptiste-Perrin (4)*, Clara Marcé (4)*, Pascal Hendrikx (2)*, Florence Etore (5), Catherine Collignon (5), Renaud Lancelot (1), Thierry Lefrançois (1), Didier Calavas (6)*

(1) Cirad, UMR CMAEE, Montpellier, France
(2) Anses, Direction des laboratoires, Maisons-Alfort, France
(3) Direction générale de l'alimentation, Bureau de l'évaluation scientifique, de la recherche et des laboratoires, Paris, France
(4) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France
(5) Anses, Direction de l'évaluation du risque, Maisons-Alfort, France
(6) Anses, Laboratoire de Lyon, Lyon, France
* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme ESA

Résumé
Les maladies animales représentent une menace potentielle pour la santé publique, l'économie ou l'environnement. La veille sanitaire en santé animale, et notamment la détection rapide d'émergences au niveau mondial d'agents pathogènes, est l'un des maillons permettant de prévenir l'introduction en France de dangers sanitaires. L'inscription dans le programme d'activité de la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) d'une nouvelle thématique « Veille sanitaire internationale » (VSI) a été décidée en janvier 2013. La mission de la VSI, animée par le Cirad, est d'identifier, suivre et analyser les signaux des dangers sanitaires (en santé animale au sens large) menaçant le territoire français dans son ensemble, dans un but de production d'information sanitaire à des fins d'évaluation du risque d'une part (Anses), et de gestion du risque d'autre part (DGAL).

Mots-clés
Veille épidémiologique, santé animale, dangers sanitaires exotiques

Abstract
Development of an International Animal Health Epidemic Intelligence activity in the frame of the French ESA Platform
Animal diseases represent a potential threat to the public health, economy and environment. There is a great need of proactive systems for surveillance not just at national but at international level as well in order to prevent the introduction of new pathogens in France. In January 2013, a new theme: "International animal health epidemic intelligence" was added to the activities of the French platform for epidemiological surveillance in animal health (ESA Platform). A multi-institutional group of experts, coordinated by Cirad, contributes to the identification, verification, and follow-up of various signals for new and emerging animal health risks not present in France and provide reports to the national institutions for risk assessment (Anses) and risk management (Ministry of Agriculture).

Keywords
Disease tracking, Animal health, Exotic disease agents

La veille sanitaire internationale (VSI) en santé animale a été inscrite au programme d'activité de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) en 2013. Elle a pour objectif d'identifier, suivre et interpréter les signaux sanitaires relatifs à des événements sanitaires inhabituels survenant à l'étranger et pouvant diffuser et présenter un caractère de gravité pour la santé des populations animales et humaines (zoonoses) en France, dans un but ultime de production d'information sanitaire à des fins d'évaluation du risque d'une part (Anses), et de gestion du risque d'autre part (DGAL).

Périmètre de l'activité de VSI

La VSI repose sur la détection et l'interprétation d'événements inhabituels au niveau international pouvant diffuser et présenter un caractère de gravité pour la santé animale et humaine (pour les dangers sanitaires zoonotiques) en France. Les sources de signaux sanitaires peuvent être des données épidémiologiques déjà collectées et distribuées par différentes sources officielles (données structurées, validées), comme par exemple les notifications faites à l'OIE. Mais des données non-structurées de nature très diverse et provenant de sources multiples et non préétablies sont également prises en compte. Il peut s'agir de rumeurs non-vérifiées provenant des media, d'informations fiables provenant de sources autorisées compétentes (OIE, services vétérinaires nationaux, etc.) ou de données issues des systèmes de surveillance et d'alerte classiques (par ex. OIE). Une attention importante est donnée à l'information en provenance d'experts et des réseaux de surveillance déjà établis (en particulier les correspondants du Cirad).

La nature des événements sanitaires suivis n'est pas prédéterminée, mais une priorité est donnée à la liste priorisée de maladies animales exotiques (avis Anses)[1], aux maladies nouvelles, et à leurs signaux non spécifiques (par exemple des épisodes de mortalité ou morbidité à l'origine inconnue). Sont également pris en compte, outre les maladies et les agents pathogènes, les vecteurs d'agents pathogènes (tiques, moustiques, Culicoïdes), dont le suivi est nécessaire à la compréhension des risques d'introduction ou de diffusion des agents pathogènes potentiellement transmis, et les conditions environnementales ou socio-économiques particulières (inondations, sécheresses, troubles sociaux, importations massives d'animaux sur pied, etc.) pouvant favoriser l'émergence de dangers sanitaires.

Le périmètre de l'activité de VSI cible en premier lieu les maladies affectant les filières de production terrestres. Cependant, des agents pathogènes affectant une filière de production aquacole, la faune sauvage ou des animaux de compagnie seront intégrés au périmètre de la veille au gré de la survenue d'événements sanitaires particuliers.

Fonctionnement du dispositif de VSI

La VSI est coordonnée par une cellule d'animation, animée par le Cirad et composée par des représentants de l'Anses, du Cirad et de la DGAL.

Les membres de la cellule d'animation sont en contact quotidien par voie télématique et se réunissent de façon régulière (environ toutes les 2/3 semaines), et selon la situation épidémiologique au niveau international. L'objet de ces réunions est de développer la méthodologie de veille, de sélectionner les maladies ou signaux d'importance, et, avec la participation des différents experts, d'analyser, de vérifier et de valider l'information, et de produire de notes d'information sanitaire.

(1) http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/SANT2008sa0390Ra.pdf et http://www.anses.fr/Documents/SANT2009sa0294Ra.pdf

Un réseau d'experts est également en cours de constitution pour contribuer de manière pro-active au travail de veille. Les experts sont sélectionnés selon leur domaine de compétence spécifique et/ou sur la base de leur connaissance de la situation sanitaire dans certaines régions ou continents.

Un travail de recherche méthodologique sur la veille

En parallèle avec cette activité de veille, un projet de recherche est mené sur *l'Identification et le traitement des signaux d'émergence pour la veille internationale sur les maladies animales émergentes*. Ce projet porté par le Cirad vise à intégrer des connaissances épidémiologiques et bioinformatiques pour proposer des méthodes innovantes de veille et d'alerte des maladies animales. Il permettra de concevoir, de mettre en place et d'animer un dispositif pour identifier, à partir de sources de veille déjà constituées, des signaux relatifs aux dangers sanitaires pris en compte, ou des facteurs de risque d'introduction ou d'émergence de ces dangers sanitaires. Il s'agira ensuite de filtrer des signaux signifiants, de les analyser et de fournir une information éclairée aux membres la Plateforme ESA.

Information sanitaire diffusée par la VSI

Sous réserve que les signaux relatifs aux événements sanitaires en cause soient fiables et non confidentiels[2], la veille sanitaire internationale de la Plateforme ESA communique sur les événements sanitaires inhabituels identifiés comme pouvant représenter des menaces, à travers des notes rendues publiques sur le site internet (« Centre de ressources ») de la Plateforme ESA (www.plateforme-esa.fr) pour une information factuelle en temps réel, ou dans le *Bulletin épidémiologique* Anses – DGAL pour une analyse plus approfondie et consolidée de l'événement.

Ainsi, par exemple, l'émergence de la diarrhée épidémique porcine, la diffusion de la fièvre aphteuse au Maghreb ou encore la propagation de la peste porcine africaine en Europe de l'est dans les populations sauvages et domestiques sont étroitement suivies en 2014[3].

Capitalisation et retour d'expérience

Le dispositif VSI sera développé pour permettre la capitalisation et le retour d'expérience sur son fonctionnement. En particulier seront tracés et archivés les résultats de l'interrogation régulière des sources de données, les signaux écartés et retenus, et les productions du dispositif.

Cela permettra de faire une analyse critique rétrospective périodique du fonctionnement du dispositif. Cette analyse de la performance pourra également se faire en comparaison avec d'autres dispositifs de veille sanitaire en France ou dans d'autres pays européens.

Le recueil en temps réel et à intervalle régulier de la perception des destinataires de la veille sera également mis en place, à travers la consultation du Groupe de suivi VSI, des membres de la Plateforme ESA ou d'enquête ponctuelles, par exemple *via* le Centre de ressources de la Plateforme ESA.

Pour en savoir plus…
Sur l'activité de veille sanitaire internationale de la Plateforme ESA : http://www.plateforme-esa.fr/images/documents/vsi.pdf

Pour consulter les notes produites par la veille sanitaire internationale de la Plateforme ESA : http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=section&layout=blog&id=23&Itemid=325

Pour être informé en temps réel

Abonnez-vous à un fil d'actualité (flux RSS) pour être automatiquement informé de la mise en ligne de nouvelles notes de veille sanitaire internationale. Pour cela, dans le Centre de ressources de la Plateforme ESA, rendez-vous dans le menu « Veille sanitaire internationale » (à gauche sur la page d'accueil), puis sur les onglets « Brèves sanitaires internationales » - « Toutes les maladies ». Abonnez-vous alors *via* l'onglet RSS signalé en bas de page (un mode d'emploi pour s'abonner au flux RSS peut être trouvé dans le Centre de ressources (http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=409:sabonner-a-un-flux-rss&catid=118:tutocdr&Itemid=266).

(2) Les informations non consolidées mais ayant un niveau de plausibilité avéré sont diffusées de manière confidentielle au niveau du comité de pilotage de la Plateforme ESA.
(3) Les notes d'information sont accessibles dans le Centre de ressources de la Plateforme ESA (http://www.plateforme-esa.fr), et les brèves parues dans le Bulletin épidémiologique Anses-DGAL dans la page internet du Bulletin (https://pro.anses.fr/bulletin-epidemiologique/)

Directeur de publication : Marc Mortureux
Directeur associé : Patrick Dehaumont
Comité de rédaction : Sandrine Baron, Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Corinne Danan, Benoît Durand, Françoise Gauchard, Pascal Hendrikx, Paul Martin, Sylvain Traynard
Rédacteur en chef : Didier Calavas
Rédactrice en chef adjointe : Clara Marcé

Secrétaire de rédaction : Catherine Delorme
Responsable d'édition : Fabrice Coutureau
Assistante d'édition : Céline Leterq
Webmaster du site du BE : Julien Vigneron
Anses - www.anses.fr
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel : bulletin.epidemio@anses.fr
Conception et réalisation : Parimage
Crédits photos : Inra, Fotolia
Impression : Bialec
65 boulevard d'Austrasie - 54000 Nancy
Tirage : 4000 exemplaires
Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORÊT

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail