

## Annexe I

# EST dans le cheptel ovin français Situation actuelle - Hiérarchisation des mesures d'amélioration de la surveillance en vue de la protection de la Santé publique

Rapport du groupe de travail sur l'épidémiologie des ESST  
animales

Juillet 2006

### **Eléments de contexte**

Suite à l'annonce de la mise en évidence, en février 2006, de deux cas d'EST ovine présentant par un seul test biochimique discriminant, pour l'un un profil non différentiable et pour l'autre un profil difficilement différentiable de l'agent de l'ESB, les autorités ministérielles ont saisi l'Afssa sur la pertinence de faire évoluer le dispositif actuel de gestion des ESST chez les ovins, et ce dans l'attente des résultats des bio-essais sur les souris qui sont en cours. C'est dans ce contexte que l'Afssa a rendu un avis en date du 1<sup>er</sup> mars 2006 qui visait d'une part à apporter des éléments d'éclairage sur les limites qu'il convenait d'apporter à l'interprétation des deux cas en question, et d'autre part à proposer des recommandations pour les troupeaux dont étaient issus ces deux cas.

Dans un second temps, l'Afssa a été saisie en mars 2006 sur la pertinence de maintenir en 2006 le programme de dépistage systématique des ovins à l'équarrissage et de l'étendre à l'abattoir au dépistage des ovins de réforme de plus de 18 mois avec un retrait des MRS étendu à l'ensemble des intestins pour les animaux nés avant 2002. Si cela s'avérait opportun, ces actions pourraient être complétées par des mesures à l'abattoir sur les ovins de moins de 18 mois. Compte tenu de ces éléments et des interrogations figurant dans la saisine interministérielle, l'Afssa a invité le CES ESST et le GT épidémiologie des ESST animales à examiner les quatre questions suivantes :

- hiérarchisation des différentes mesures de protection du consommateur ;
- plan d'échantillonnage relatif à un sondage à l'abattoir sur les agneaux et ovins de moins de 18 mois ;
- optimisation des tests de dépistage ;
- exposition de la population française.

### **Préambule**

En préambule à ce document, il paraît important de rappeler que la pathogénie et l'épidémiologie des EST bovines et ovines sont très différentes, ce qui impose des approches de protection de la santé publique et de la santé animale fort différentes dans ces deux espèces.

Dans le cas de la surveillance de l'ESB chez les bovins, le dispositif actuel, vise à une caractérisation du statut individuel des animaux et permet de mener à la fois une action de santé publique et de santé animale : il permet d'assurer la protection de la santé publique grâce à l'élimination des tissus à risque et la destruction des carcasses des animaux positifs, et a un objectif de santé animale en permettant la détection des exploitations touchées et le contrôle de la maladie. Ce double objectif est possible grâce à la pathogénie particulière de l'ESB chez les bovins, à savoir l'atteinte du système nerveux central sans atteinte de la carcasse.

Chez les ovins, la situation est très différente. Si l'ESB existait chez les ovins dans les conditions naturelles, protéger le consommateur de l'éventuelle présence de l'agent de l'ESB chez les ovins ne serait pas possible en se basant uniquement sur le retrait des matériels à risque et la destruction des carcasses des animaux positifs. Ceci est la conséquence de la pathogénie de l'ESB et de la tremblante classique chez les ovins ; en effet, l'atteinte du système nerveux central étant postérieure à celle d'autres compartiments de l'organisme, et la dissémination de l'agent n'étant pas limitée aux matériels à risque spécifié, des éléments de la carcasse pourraient être contaminés par l'agent de l'ESB sans que les tests de dépistage soient positifs dans l'encéphale. Par ailleurs les données scientifiques montrant que le prion s'accumule dans le muscle et le sang sont de plus en plus nombreuses (à des niveaux cependant très inférieurs à ceux retrouvés dans

le système nerveux central et le système lymphoïde). Enfin la transmissibilité intra-spécifique de l'ESB chez les ovins est expérimentalement démontrée et existerait très vraisemblablement dans les conditions naturelles.

Ainsi la protection de la santé publique en matière d'ESB ovine doit-elle être conçue dans une autre logique que celle mise en œuvre en matière d'ESB chez les bovins, et être organisée non plus à l'échelle de l'animal mais à celle du troupeau. Dans ce contexte, l'utilisation des tests rapides doit être réfléchi, soit pour permettre la détection des exploitations atteintes d'EST dans lesquelles des mesures de lutte peuvent permettre la protection du consommateur, soit à l'inverse pour contribuer à déterminer que le cheptel est indemne d'EST. Les bases scientifiques d'une telle qualification sont par ailleurs difficiles à établir, compte tenu de la méconnaissance des conditions exactes de dissémination de l'agent des EST, notamment l'ESB ovine, dans un contexte de maladie à longue période d'incubation.

Enfin, si l'ESB et la tremblante classique se comportent de manière similaire chez les ovins (en particulier en matière de pathogénie et de susceptibilité génétique), une forme d'EST nouvellement décrite, dénommée tremblante atypique se comporte différemment, ce qui a des implications majeures en matière de diagnostic (zone d'accumulation préférentielle de la PrPres différente) et de contrôle.

### **Objectifs du rapport**

Le présent document vise à fournir au CES ESST un appui scientifique et technique pour répondre à la saisine relative à l'évaluation du risque lié à la présence d'EST dans l'espèce ovine. Ainsi, le Groupe de travail Epidémiologie des ESST animales a analysé le système de surveillance actuel et la situation du cheptel ovin français vis-à-vis des EST, et propose une hiérarchisation des mesures qui permettraient d'améliorer leur détection dans la population ovine dans un objectif de protection de la santé publique et de contrôle de ces maladies chez l'animal.

## **1. Analyse du dispositif de surveillance actuel**

Le dispositif de surveillance actuel des EST chez les ovins repose sur quatre programmes :

- la surveillance clinique des ovins au plan national (depuis le 14 juin 1996, date à laquelle la tremblante des petits ruminants est devenue une maladie à déclaration obligatoire) ;
- le contrôle sanitaire officiel (CSO), dispositif mis en place en 1998 et revu en 2004 qui concerne les échanges intracommunautaires de reproducteurs ovins et caprins ainsi que la production et les échanges de matériel génétique (semences, embryons) au niveau français et communautaire ;
- le programme de surveillance active à l'équarrissage, mis en œuvre depuis 2002, en application du règlement européen CE 999/2001 ; ce programme a été conduit sous la forme d'un sondage annuel de 2002 à 2005 ; il a été rendu systématique par note de service de la Direction générale de l'alimentation en date du 22 novembre 2005 ;
- le programme de surveillance active à l'abattoir, mené sur les mêmes principes et de la même manière que le précédent depuis 2002, et rendu systématique par note de service de la Direction générale de l'alimentation en date du 27 mars 2006.

Par ailleurs, la police sanitaire participe au contrôle de la maladie par l'assainissement des troupeaux infectés détectés, et la mise en place d'une sélection sur une base génétique.

Une surveillance renforcée à l'abattoir et à l'équarrissage des animaux de plus d'un an issus des élevages identifiés à risque suite à la découverte d'un cas de tremblante (élevages mis sous « APMS de suivi ») contribue en outre depuis 2003 aux deux programmes de surveillance active décrits ci-dessus<sup>1</sup>

Enfin, depuis janvier 2006, une surveillance renforcée des cheptels bénéficiant d'une qualification zootechnique au sens génétique est prévue par note de service du Ministère de l'agriculture et de la Pêche. Cette surveillance, fondée sur des dispositions communautaires, concerne un certain pourcentage des animaux conduits à l'abattoir. Aucun cheptel n'est concerné à ce jour.

- **Contribution des programmes à la détection des foyers incidents d'EST**

On entend par foyer incident une exploitation ovine dans laquelle un cas d'EST a été détecté pour la première fois par l'un des programmes de surveillance.

La simple analyse de la distribution de foyers incidents détectés depuis 1996 en fonction du programme de surveillance (Cf. graphique infra), permet de tirer les enseignements suivants :

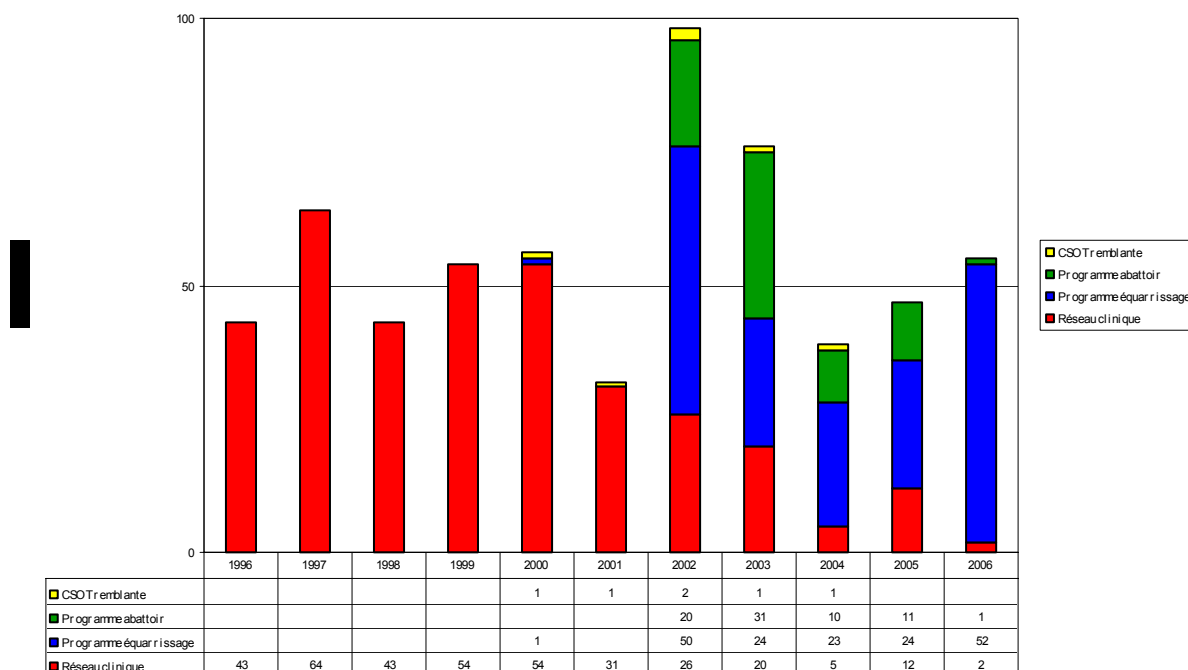
- la surveillance clinique conduit à une sous-identification des foyers, à l'instar de ce qui a été décrit pour l'ESB ; des foyers supplémentaires sont détectés dès que d'autres systèmes de surveillance sont mis en œuvre ; de plus, comme en matière d'ESB, la montée en puissance de la surveillance active fait diminuer considérablement l'efficacité de la surveillance clinique, par un effet de vases communicants maintenant bien décrit (de 2002 à 2005, respectivement 67, 69, 37 et 45 suspicions cliniques de tremblante sur l'ensemble du territoire pour une population d'environ 7 millions d'ovins adultes ; c'est à dire une suspicion portée chaque année dans environ 60 élevages sur les 80 000 élevages existants (Agreste actualisé 2003)) ;
- le CSO ne contribue pas significativement à la détection des foyers incidents, puisque d'une part il s'adresse par définition à des élevages recherchant une certification, donc a priori indemnes d'EST, en tout cas dans lesquels ni l'éleveur ni son vétérinaire n'ont identifié de cas cliniques d'EST, que d'autre part il n'est mis en œuvre que dans un nombre limité d'élevages ovins<sup>2</sup>; cependant il faut noter que depuis 1998, le CSO a permis de détecter 6 foyers incidents (source Tableau de bord tremblante Afssa au 1<sup>er</sup> mars 2006). Et enfin, la proportion d'animaux faisant l'objet d'un test est très faible (1% des animaux de plus de 2 ans par troupeau-an jusqu'en 2005).

---

<sup>1</sup> Les animaux détectés dans ce cadre sont comptabilisés dans le nombre de cas positifs détectés ; en revanche les tests négatifs réalisés dans ce cadre ne font pas l'objet d'un enregistrement dans la base de données de la DGAL.

<sup>2</sup> Le nombre d'élevages n'est pas comptabilisé au plan national ; le CSO s'adresse préférentiellement si ce n'est exclusivement aux élevages sélectionneurs des différentes races ovines. Dans le meilleur des cas (si 100% des élevages sélectionneurs étaient en CSO, soit environ 2300 élevages), le CSO impliquerait 2,8% des 80 000 élevages ovins et 14% des 6 750 000 brebis et agnelles.

*Distribution annuelle du nombre de foyers incidents par programme (période du 01/06/1996 au 01/03/2006 ; source Tableau de bord tremblante Afssa)*



Les programmes de surveillance active par sondage ont permis de détecter depuis 2002 un certain nombre de foyers incidents. Cependant, sur une base annuelle, les ovins détectés positifs à l'équarrissage et à l'abattoir provenaient d'exploitations différentes (pour les animaux traçables), sauf à deux occasions en 2002 et 2004, années pendant lesquelles un animal positif à l'abattoir et un animal positif en équarrissage provenaient du même troupeau. La quasi indépendance entre troupeaux détectés en équarrissage et abattoir peut s'expliquer en premier lieu par le fait que lorsqu'un cas positif est détecté à l'abattoir ou à l'équarrissage, les cheptels de provenance ne sont plus soumis aux mesures de surveillance usuelles, mais sont suivis dans le cadre des mesures de police sanitaire (et les cas détectés sont alors comptabilisés séparément). Au delà de cette raison, un programme fondé sur un échantillon d'animaux, fût il de plusieurs milliers d'animaux<sup>3</sup> ne permet de détecter qu'une fraction des troupeaux atteints, du fait que :

- la prévalence de la tremblante est faible au niveau animal (de 1 à 2 % des animaux adultes abattus ou équarris) ;
- la prévalence des troupeaux infectés est également vraisemblablement faible. Pour rappel, une modélisation faite en Norvège a estimé que dans le meilleur des cas, un tel programme ne permettait que de détecter 9% des troupeaux atteints<sup>4</sup>.

<sup>3</sup> Les programmes de surveillance ne testent qu'un échantillon des populations concernées (sur la base d'une population de 250 000 ovins équarris par an (source DGAI) respectivement 6,9, 7,5 et 4,9 % de la population ovine équarrée en 2002, 2003 et 2004 ; sur la base de 650 000 ovins adultes abattus par an (source DGAI) respectivement 5,2, 6,8 et 1,9 % de la population ovine abattue en 2002, 2003 et 2004.

<sup>4</sup> Hopp P, Webb CR and Jarp J. Monte Carlo simulation of surveillance strategies for scrapie in Norwegian sheep. Preventive Veterinary Medicine 2003;61:103-25.

- **Limites liées à la conception et à la mise en œuvre du programme de détection exhaustif actuel**

Le programme de surveillance active exhaustif, tel que décrit dans les deux notes de service mentionnées ci dessus, connaît des limites importantes dans sa conception et dans sa mise en oeuvre, conduisant à une sous-identification des élevages ovins atteints d'EST.

Sur le plan du dessin du programme :

- l'exhaustivité de la réalisation des prélèvements en équarrissage n'est pas imposée totalement, puisqu'il est prévu que « les jours d'affluence dans certains sites, un plafond de 500 cadavres prélevés par jour pourra être appliqué à ces sites » ; par ailleurs pour les zones où les cadavres sont « collectés en vrac dans des containers collectifs (dépôts libres en région PACA notamment) [ils] doivent faire l'objet (...) d'un prélèvement dans la mesure du possible... » ; il est clair que les moyens n'ont pas été totalement pris pour assurer l'exhaustivité des prélèvements en équarrissage ;
- il est demandé aux préleveurs « de faire leur possible » pour prélever, en sus du tronc cérébral, un fragment de cervelet ». Il existe deux types de cuillers de prélèvement, dont l'une pourrait être plus appropriée au prélèvement du cervelet. Il conviendrait d'évaluer leurs efficacités respectives, et de ne retenir, si tel est le cas, que la plus performante. A cette occasion, il conviendrait également de proposer un protocole et d'organiser la formation du personnel amené à faire ces prélèvements ;
- le choix du test de première intention est laissé à l'initiative du laboratoire départemental d'analyse ; cela a pour effet de sous estimer la prévalence des formes atypiques de tremblante, cf. Annexe 1 ;
- dans ces conditions, les prélèvements de cervelet n'ont comme intérêt que de permettre de mieux préciser le statut classique/atypique de certains échantillons pour lesquels cette distinction n'est pas aisée sur le tronc cérébral. En revanche, les cas de tremblante atypique qui ne seraient détectables que sur le cervelet passeront inaperçus, sauf à réaliser une double analyse obex/cervelet.

Sur le plan de la mise en œuvre du programme :

- les programmes par sondage à l'équarrissage et à l'abattoir mis en œuvre entre 2002 et 2005 ont fait l'objet d'un taux d'échantillonnage hétérogène sur le plan géographique, biaisant ainsi l'estimation des prévalences ; l'analyse du plan exhaustif de détection des caprins en 2005 indique que l'exhaustivité n'a pas été atteinte ; il est très probable, bien que non documenté, que ce défaut d'exhaustivité ne soit pas imputable à un défaut de réalisation des prélèvements sur les animaux aboutissant à l'équarrissage ou à l'abattoir, mais à un échappement des animaux avant ces destinations ; on peut raisonnablement poser l'hypothèse qu'il en sera de même pour les ovins ;
- les proportions des ovins non traçables<sup>5</sup>, très vraisemblablement sous estimées du fait d'un recrutement préférentiel d'animaux identifiés, étaient de 9,7%, 7,4%, 6,9% et 6,1% respectivement en 2002, 2003, 2004 et 2005, équarrissage et abattoir confondus. La

---

<sup>5</sup> L'exploitation d'origine de l'animal est estimée à partir du numéro individuel des animaux (extraction automatique dans la base de données ESST de la DGAI des 8 premiers chiffres du numéro individuel saisi dans cette base ; ce numéro individuel correspond au numéro inscrit sur une des boucles portées par les animaux abattus ou équarris ; une boucle a pu être apposée dans chacun des élevages dans lesquels l'animal a séjourné).

Ainsi, ces numéros ne reflètent l'élevage de naissance que si :

- l'animal n'a jamais changé d'exploitation (y compris pas de passage par un négociant avant envoi à l'abattoir),
- le numéro a été correctement relevé par l'agent préleveur puis correctement saisi (difficultés notamment liées au format variable des numéros individuels des petits ruminants).

Dans un certain nombre de cas, impossible à estimer, cette extraction automatique peut donc conduire à un cheptel secondaire, un négociant ou ne correspondre à rien. Elle peut aussi conduire à des cheptels qui n'existent plus.

procédure d'identification des cadavres mise en place en novembre 2005 visant à garantir l'identification de l'exploitation dans laquelle ont été collectés les animaux, n'a semble-t-il pas permis de diminuer la proportion d'animaux non traçables<sup>6</sup> ; cependant il se peut que l'effet de cette mesure ait été compensé par une meilleure inclusion dans le programme des animaux non identifiés. Le résultat final est néanmoins qu'une part non négligeable des animaux ne sont pas traçables.

## 2. Analyse des connaissances actuelles

- Analyse des données de surveillance active chez les ovins depuis 2002

### *Prévalence brute des EST dans les programmes de surveillance active*

	2002	2003	2004	2005	2006*
Abattoir	31/33 764 0,92 ‰	45/ 44 408 1,02 ‰	15/12427 1,21‰	12/12208 0,98‰	3/3130 0,96‰
Equarrissage	121/ 17 434 6,94 ‰	33/ 18 674 1,77 ‰	22/12294 1,79 ‰	38/22196 1,71 ‰	92/95479 0,96 ‰
Rapport de prévalence Equarrissage/Abattoir	7,5	1,75	1,5	1,75	1

\* données au 31 mars 2006

La différence significative de prévalence brute à l'équarrissage entre 2002 et 2003 s'explique pour parti par des erreurs d'imputation d'animaux à des programmes en 2002 : certains animaux inclus dans la catégorie équarrissage étaient des animaux testés dans le cadre de la police sanitaire de la tremblante dans les élevages dans lesquels un cas avait été détecté<sup>7</sup>. Cependant, même en réaffectant correctement ces animaux, la différence de prévalence reste significative. On ne peut pas exclure un échappement à l'équarrissage d'animaux présentant des symptômes compatibles avec les EST depuis la mise en œuvre des programmes de surveillance active. Il faudra en particulier suivre la tendance de la prévalence à l'équarrissage en 2006, la prévalence inférieure pour le premier trimestre 2006 pouvant être due à un effet saisonnier.

Globalement, la prévalence en équarrissage apparaît très homogène de 2003 à 2005. Une certaine prudence s'impose néanmoins dans la comparaison de ces prévalences brutes, étant donné les biais relevés dans la mise en œuvre des programmes : un prélèvement des animaux vraisemblablement non aléatoire à l'abattoir et à l'équarrissage, une hétérogénéité géographique du taux de sondage et l'utilisation de tests ayant des performances différentes. Si on réalise des simulations pour tenir compte de ces trois biais, les prévalences estimées sont sensiblement différentes, cf. tableau ci dessous<sup>8</sup>.

<sup>6</sup> La proportion d'animaux non identifiés (codés XXXXXX dans la base de données a augmenté significativement au 1<sup>er</sup> trimestre 2006 par rapport à l'année 2005 (8.3% vs 6.1 % - chi deux, p<10-6).

<sup>7</sup> Morignat E, Cazeau G and Calavas D : Surveillance active de la tremblante chez les petits ruminants - Analyse du programme 2003, rapport AFSSA, 2004.

<sup>8</sup> *Ibid.*

## ***Prévalences brutes et simulées des EST dans les programmes de surveillance active***

		2002	2003	2004	2005
Abattoir	Prévalence brute	0,92 ‰	1,02 ‰	1,21‰	0,98‰
	Prévalence simulée*	1,66 ‰	1,05 ‰	2,15‰	ND
Équarrissage	Prévalence brute	6,94 ‰	1,77 ‰	1,79‰	1,71‰
	Prévalence simulée*	13,55 ‰	2,73 ‰	2,81‰	ND

\* les prévalences simulées correspondent à une estimation de la prévalence, toutes EST confondues, incluant les formes atypiques de tremblante.

Si on ne considère que les années 2003 et 2004, le rapport des prévalences brutes entre équarrissage et abattoir (respectivement 1,75 et 2) est très différent de ce qui est observé pour l'ESB chez les bovins (respectivement 20, 19, 25 et 17,4 pour l'ESB chez les bovins en 2001, 2002, 2003 et 2004). En matière d'ESB, les animaux détectés positifs en équarrissage sont très majoritairement en phase clinique de la maladie, alors que les animaux détectés positifs à l'abattoir semblent être majoritairement en phase préclinique<sup>9</sup>. Cette différence ne s'explique pas par l'existence de formes atypiques de tremblante. Si on retire les cas atypiques, ces rapports de prévalence entre équarrissage et abattoir sont de 2,55 en 2003 et de 3,98 en 2004. La différence de rapport de prévalence entre bovins et ovins pourrait s'expliquer par une pathogénie différente, l'accumulation de PrPres à un niveau détectable dans le système nerveux central étant très certainement plus précoce et plus progressive chez les ovins. Cette explication n'est cependant vraisemblablement pas suffisante pour expliquer une telle différence. Un autre élément d'explication pourrait être lié au fait que la symptomatologie de la tremblante est quelquefois fruste, rendant l'identification des cas cliniques délicate que ce soit au niveau des exploitations ou lors de l'inspection *ante mortem* en abattoir ; la proportion de cas cliniques parmi les cas détectés en abattoir pourrait être supérieure à ce qui est considéré pour les bovins, ce qu'il conviendrait d'explorer formellement.

### **• Analyse des caractéristiques des tests de détection et de discrimination**

#### **Validation des tests**

Un avis de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (AESA) a été rendu en juin 2005 sur 6 tests *rapides* de dépistage *post mortem* des EST chez les petits ruminants<sup>10</sup> :

- les 6 tests (BioRad TeSeE, BioRad TeSeE sheep/goat, Enfer TSE Test v2.0, Institut Pourquier Scrapie Test, Prionics Check LIA Small Ruminant, Prionics Check WB Small Ruminant) donnent des résultats satisfaisants en termes de sensibilité et de spécificité diagnostiques pour détecter la tremblante classique, mais il y a des différences importantes de sensibilité analytique entre tests ;
- tous les tests sauf Prionics Check LIA Small Ruminant détectent les cas atypiques sur les échantillons de cortex utilisés pour l'étude et sont donc recommandés pour une analyse sur cortex ou cervelet;
- seuls les tests Biorad permettent une détection efficace des cas atypiques (Nor-98) sur un échantillon de tronc cérébral ;
- les 6 tests détectent les cas d'ESB ovine sur le tronc cérébral, mais il y a des différences importantes de sensibilité analytique entre tests.

<sup>9</sup> Cazeau G, Ducrot C, Collin E, Desjouis G and Calavas D. Questionnaire analysis of BSE cases in France detected by active surveillance and the reasons for non-notification. The Veterinary Record 2004;154(5):133-6.

<sup>10</sup> EFSA Scientific report (2005)31,1-17 on the Evaluation of Rapid *post mortem* TSE Tests intended for Small Ruminants.



L'AESA a rendu un deuxième avis, en septembre 2005<sup>11</sup>, relatif à l'évaluation de trois autres tests (Fujirebio FRELISA, IDEXX Herdcheck et InPro CDI-5). :

- le test Fujirebio a montré une sensibilité diagnostique insuffisante pour être retenu. Par ailleurs, il n'a pas pu détecter aucun des trois échantillons de tremblante atypique ;
- les tests IDEXX et InPro donnent des résultats satisfaisants en termes de sensibilité et spécificité diagnostiques avec la tremblante classique et l'ESB, mais la sensibilité analytique du test IDEXX est supérieure (en fait comparable à celle observée avec le tests TeSeE sheep/goat), le test présentant la meilleure sensibilité analytique lors de la première évaluation petits ruminants.

Il faut noter que selon l'évaluation, le test IDEXX peut aussi être recommandé pour détecter la tremblante atypique sur un échantillon de tronc cérébral alors que le test InPro CDI-5 n'est utilisable que sur échantillon de cortex ou cervelet.

Les tests biochimiques discriminants tremblante/*ESB like* (dénommés tests discriminants ci-après) dérivent des tests *rapides*. Ces tests ne sont mis en œuvre que sur les cas détectés positifs en première intention par un test *rapide*, et on ne peut donc, par définition, trouver des cas *ESB like* que parmi les cas EST positifs.

### Spécificité des tests discriminants

On connaît mal la spécificité des tests discriminants. Quand un prélèvement est positif par un test discriminant, ce prélèvement est soumis à un *ring trial*, organisé au niveau européen par le laboratoire communautaire de référence (CRL), avec la mise en œuvre de plusieurs tests discriminants ; à ce stade, le statut de certains prélèvements ne peut pas être formellement établi (soit certains tests n'ont pas pu être appliqués, soit ils donnent des résultats discordants entre tests discriminants ; à ce jour plusieurs prélèvements ovins (source : réseau typage de souches), dont l'isolat ovin britannique CH1641 entrent dans ce cas). Les prélèvements qui passent le *ring trial* sont déclarés *ESB like*. Ces prélèvements sont alors soumis à un bio essai sur souris. Actuellement le seul cas *ESB like* publié a été confirmé indistinguable de l'ESB par ces bio essais (donc une spécificité de 100% sur un cas). Les éventuels défauts de spécificité des tests discriminants sont donc traités *en aval* par les bio essais sur souris (les faux positifs *ESB like*/ESB sont écartés à ce stade). La prévalence réelle de l'ESB chez les ovins ne peut donc être connue qu'à l'issue des bio essais, la prévalence des cas *ESB like* pouvant être supérieure à la prévalence de l'ESB, sans que l'on puisse estimer dans quelle proportion<sup>12</sup>.

### Sensibilité des tests discriminants

La sensibilité des tests discriminants est actuellement estimée à 100% ; cette sensibilité a été établie à partir de 19 petits ruminants infectés expérimentalement par l'ESB (14 ovins dans le cadre de la validation par le CRL des cinq tests proposés par les laboratoires inventeurs, 3 ovins provenant d'expérimentations menées à l'AFSSA Lyon et 2 caprins provenant d'expérimentations en Ecosse). A partir du moment où on ne met en œuvre qu'un seul test discriminant « en première intention » c'est à dire sur les prélèvements confirmés positifs, la borne inférieure de l'intervalle de confiance (IC) de cette sensibilité est donc de 82,35 % (loi binomiale exacte).

<sup>11</sup> EFSA Scientific report (2005)49,1-16 on the Evaluation of Rapid *post mortem* TSE Tests intended for Small Ruminants.

<sup>12</sup> Une fois un cas identifié *ESB like* par un des tests discriminants, le prélèvement est soumis à un ring trial qui met en œuvre d'autres tests discriminants. La méthode de discrimination biochimique a été élaborée à partir de 5 tests (3 Western Blot, 1 ELISA et 1 immuno-histochimie) qui tous identifient la souche ESB en caractérisant la sensibilité de la PrPres correspondante à un traitement par une protéase mais avec des techniques et des anticorps différents. La spécificité du résultat du ring trial par rapport au statut ESB du prélèvement est supérieure à la spécificité du résultat du test discriminant réalisé en première intention. Pour calculer la borne inférieure de l'intervalle de confiance, il faudrait prendre en compte le niveau d'indépendance respective des tests utilisés.

### **Signature de l'ESB et sites anatomiques**

On considère aujourd'hui que la signature biochimique et immunohistochimique de l'ESB chez les ovins est conservée après plusieurs passages dans cette espèce, et ceci quel que soit le génotype des animaux. Parmi les 14 isolats ovins ayant été inclus dans la phase de validation des tests discriminants, 10 isolats provenaient de deuxièmes passages de l'ESB chez le mouton. Notons par ailleurs que ces 14 isolats provenaient d'ovins de même génotype ARQ/ARQ, comme les 3 isolats provenant d'expérimentations à l'Afssa Lyon. Il n'y a pas aujourd'hui de données publiées concernant la stabilité de cette signature en troisième passage chez les ovins, ni de données sur la signature de l'ESB chez des ovins d'autres génotypes. Sachant que l'identification des cas d'ESB chez les ovins va reposer sur la détection des cas *ESB like* par ces tests discriminants, l'hypothèse de la stabilité de la signature est essentielle<sup>13</sup>, en particulier quand on considère que l'exposition de la population ovine à l'agent de l'ESB a eu préférentiellement lieu entre les années 1980 et 1990, et a diminué avec les différents trains de mesure pris depuis, et que les cas d'ESB qui seraient diagnostiqués aujourd'hui chez les ovins seraient en grande partie le fait de transmissions ultérieures dans la population ovine. Il est donc de la plus haute importance de disposer de données complémentaires par rapport à cette hypothèse : stabilité en troisième passage et au delà, stabilité quel que soit le génotype.

Les tests discriminants n'ont été validés que sur le système nerveux central, et plus spécifiquement sur le tronc cérébral (les 14 ovins inclus dans le cadre de la validation par le CRL). Par ailleurs, dans une phase précédente d'évaluation, deux autres animaux avaient été testés de façon satisfaisante par les 4 tests. Il s'agissait de passages primaires, et dans ce cas les tests avaient été effectués sur tronc cérébral, cortex frontal, cortex occipital et cortex pariétal. On doit donc considérer que ces tests ont été validés sur des prélèvements de tronc cérébral avec une indication de portée limitée selon laquelle ces tests peuvent aussi être appliqués au cortex cérébral. On n'a pas d'indication à ce jour sur leur application à des prélèvements de cervelet. Dans l'attente de données complémentaires sur le cervelet, seul le tronc cérébral peut être utilisé dans l'objectif de mettre en évidence les cas *ESB like* dans la population ovine. Les mêmes remarques sont valables pour les prélèvements de tissus lymphoïdes, aucune validation de ces tests discriminants n'étant disponible pour ces tissus. Cela est à prendre en compte, par exemple dans l'hypothèse d'une analyse d'un mélange de prélèvements de tronc cérébral et de tissu lymphoïde du même animal, qui pourrait être envisagée pour augmenter la sensibilité de la détection des animaux infectés par une EST.

- **Pathogénie de l'ESB et de la tremblante chez les ovins**

Les connaissances actuelles, qui reposent sur un nombre limité de cas expérimentaux, conduisent à penser que la pathogénie de l'ESB chez les ovins est proche de celle de la tremblante classique, en termes de cinétique d'accumulation de la PrPres et de dissémination de ce marqueur dans l'organisme. Par ailleurs, on admet également que les facteurs de susceptibilité génétique sont proches entre ESB et tremblante classique.

On posera donc l'hypothèse que la proportion de cas *ESB like* est équivalente parmi les cas détectés positifs par un test rapide à l'équarrissage et à l'abattoir.

---

<sup>13</sup> Cette hypothèse est également essentielle pour envisager des mesures de police sanitaire différentes entre foyers de tremblante typique et foyers dus à l'agent de l'ESB.

En revanche, la pathogénie des cas atypiques apparaît différente, avec en particulier une absence de marquage par la PrPres dans le système lymphoïde. Dans ces conditions, l'analyse d'un mélange de prélèvements de tronc cérébral et de tissu lymphoïde du même animal pourrait conduire à une sous-détection des cas atypiques, d'autant que pour ces cas, la concentration de PrPres dans le tronc cérébral est en général déjà inférieure à ce qu'on observe dans le cas de tremblante classique.

### **3. Hiérarchisation des mesures en vue de l'amélioration de la détection des EST dans la population ovine**

La réflexion sur la hiérarchisation des mesures d'amélioration de la détection des EST dans la population ovine, dans une finalité de protection de la santé publique, a été menée en prenant en compte toutes les formes d'EST décrites à ce jour dans la population ovine française (tremblante classique et atypique), ou potentiellement présentes (ESB).

Cette hiérarchisation ne peut être aujourd'hui que qualitative, de nombreux paramètres n'étant pas disponibles (prévalence des troupeaux atteints, distribution des animaux positifs par troupeau, structure génotypique des troupeaux ovins, prévalence de positivité dans le système nerveux *vs* les tissus lymphoïdes, etc.) ; de plus, à supposer ces paramètres connus, une approche quantitative requerrait le développement de modélisations, qu'il conviendrait d'entreprendre dans le cadre d'un programme de recherche, et non dans le cadre de ce groupe de travail.

L'idée force de cette hiérarchisation est qu'il convient d'augmenter les performances du système actuel – une détection exhaustive à l'équarrissage et à l'abattoir –, visant à repérer le plus exhaustivement possible les foyers d'EST<sup>14</sup>, avant d'envisager une quelconque mesure supplémentaire.

#### **3.1 Augmenter les performances du système de détection actuel**

Il conviendrait tout d'abord de documenter l'effet du renforcement récent des recommandations visant à prélever les animaux non identifiés, par exemple par des contrôles en équarrissage. Par ailleurs, malgré la mise en place d'un bouclage par l'équarrisseur au départ de l'élevage, il reste une proportion non négligeable d'animaux qui arrivent à l'équarrissage sans aucune boucle (8,3 % au 1<sup>er</sup> trimestre 2006) ; une amélioration du système consisterait de prendre des mesures pour faire diminuer cette proportion.

##### ***Première mesure - Assurer l'identification des animaux et leur traçabilité***

Il est indispensable de mettre en place sans attendre un système d'identification fiable des ovins, à l'instar de ce qui est fait pour les bovins, permettant de tracer les élevages dans lesquels ils ont vécu.

Ceci est indispensable notamment :

- sur le plan de l'analyse épidémiologique afin de pouvoir estimer des prévalences sans biais au niveau national et pour estimer au mieux les prévalences "troupeau" ;

---

<sup>14</sup> Et d'y appliquer des mesures de contrôle adaptées au type d'EST détecté, cette question n'entrant pas dans le cadre de cette saisine.

- sur le plan du contrôle du risque afin de rendre plus efficace la police sanitaire par une meilleure traçabilité des animaux issus des troupeaux atteints ;
- dans une perspective de qualification des élevages au plan national, de manière à pouvoir attribuer le résultat des tests négatifs en abattoir et en équarrissage aux élevages d'origine des animaux (disposition déjà mise en place dans le cadre du CSO).

***Deuxième mesure - Viser à l'exhaustivité de l'inclusion des ovins de 18 mois et plus dans les programmes de surveillance active et documenter proprement les voies de sortie des animaux / les échappements et faire de propositions pour améliorer l'exhaustivité***

Au regard de l'équarrissage, on peut identifier les échappements suivants :

- cadavres non collectés par l'équarrissage (cadavres non retrouvés au pâturage, enfouissement sur place, nourrissage des vautours...) ;
- cadavres collectés dans des conditions impropres à la réalisation de prélèvements (containers de collecte dans le Sud Est de la France...) ;
- cadavres collectés mais non prélevés (état de conservation du cadavre, erreur d'estimation de l'âge,...).

Au regard de l'abattoir, il conviendrait de contrôler les abattages à la ferme et les abattages clandestins.

Viser l'exhaustivité nécessiterait donc de mettre en place un dispositif qui contrôle à la source, c'est à dire dans les élevages, que la totalité des ovins de 18 mois et plus, morts ou destinés à être abattus, soient dirigés respectivement vers un équarrissage et un abattoir pour y être testés, au delà du dépistage de la sous population d'animaux qui y arrivent actuellement.

***Troisième mesure - Choisir un test et un type de prélèvement permettant de détecter l'ensemble des formes d'EST***

L'obex est le site anatomique d'élection pour détecter l'ESB. La tremblante atypique est quant à elle détectée avec une sensibilité satisfaisante par plusieurs tests si l'on analyse du cervelet mais par beaucoup moins de tests si l'on analyse un prélèvement d'obex.

Dans ces conditions, le groupe de travail recommande d'utiliser le(s) test(s) ayant la plus grande sensibilité analytique à la fois vis-à-vis de l'ESB et de la tremblante atypique sur le tronc cérébral.

Une seconde solution consiste à combiner deux tests (un test sur obex pour détecter la tremblante classique et subséquent pour rechercher l'ESB, et un test (adapté) pour détecter la tremblante atypique sur le cervelet). Ceci pourrait augmenter la sensibilité de la détection des cas atypiques par rapport à la solution précédente. Cette augmentation de la sensibilité de détection n'est pas quantifiable en l'état actuel des connaissances (il faudrait pour cela pouvoir analyser à la fois sur obex et cervelet un nombre suffisant d'ovins atteint de tremblante atypique). Il conviendrait de fournir aux préleveurs un protocole adapté et clair (cf. Annexe 2) et assurer leur formation.

### 3.2 Mesures de détection ou de contrôle supplémentaires

Des mesures supplémentaires peuvent être envisagées si les trois propositions sont effectivement mises en œuvre.

#### ***Quatrième mesure - Prendre en compte la possible coexistence de plusieurs EST dans un élevage***

La coexistence d'une souche de tremblante classique et d'une souche atypique dans un même élevage a déjà été constatée, mais la fréquence de cette coexistence n'est pas documentée à ce jour. Actuellement, le typage différentiel (entre tremblante classique et atypique) n'est effectué que sur le cas index dans les troupeaux atteints, ce qui ne permet pas de découvrir l'existence éventuelle de la deuxième forme dans les troupeaux. Aussi, le typage différentiel systématique appliqué aux cas secondaires trouvés dans le cadre de la police sanitaire permettrait d'estimer la fréquence de l'associations entre tremblantes classique et atypique et de dessiner un profil des élevages touchés (ces données seraient par ailleurs utiles dans le cadre de la mise en place d'une qualification).

En appliquant le même raisonnement, la présence simultanée de souche ESB like et d'autres ESST dans un même élevage ne peut être exclue. Actuellement seuls les cas index font l'objet d'un test discriminant l'ESB de la tremblante. Il conviendrait d'appliquer systématiquement ce test discriminant sur les cas secondaires trouvés dans le cadre des abattages liés à la police sanitaire ; cette mesure serait de nature à améliorer la sécurité du consommateur.

#### ***Cinquième mesure - Tester des ovins de moins de 18 mois ?***

La question de l'opportunité de tester des animaux de moins de 18 mois fait appel à des considérations d'ordre physiopathogénique et épidémiologique.

##### Considérations d'ordre physiopathogénique:

Chez des ovins de génotype ARQ/ARQ, qui ne présentent pas de résistance particulière vis à vis de l'ESB après administration de l'agent de l'ESB par voie orale à l'âge de 6 mois, la PrPsc est détectable par immunohistochimie dans les organes lymphoïdes dès 4 mois post inoculation. La dissémination de l'agent infectieux dans le système nerveux est plus tardive et intervient entre 10 mois (animaux âgés de 16 mois) et 16 mois post-inoculation (animaux âgés de 22 mois)<sup>15</sup>.

Le même schéma pathogénique a été récemment observé après inoculation expérimentale par voie orale d'ovins ARQ/ARQ nouveaux-nés : détection de PrPsc dans les organes lymphoïdes dès 4 mois et dans le système nerveux central dès 10 mois<sup>16</sup>. L'âge seuil auquel la PrPsc commence à s'accumuler dans le système nerveux central dans ce modèle expérimental est donc inférieur à 10 mois et vraisemblablement supérieur à 6 mois (O. Androletti observations non publiées).

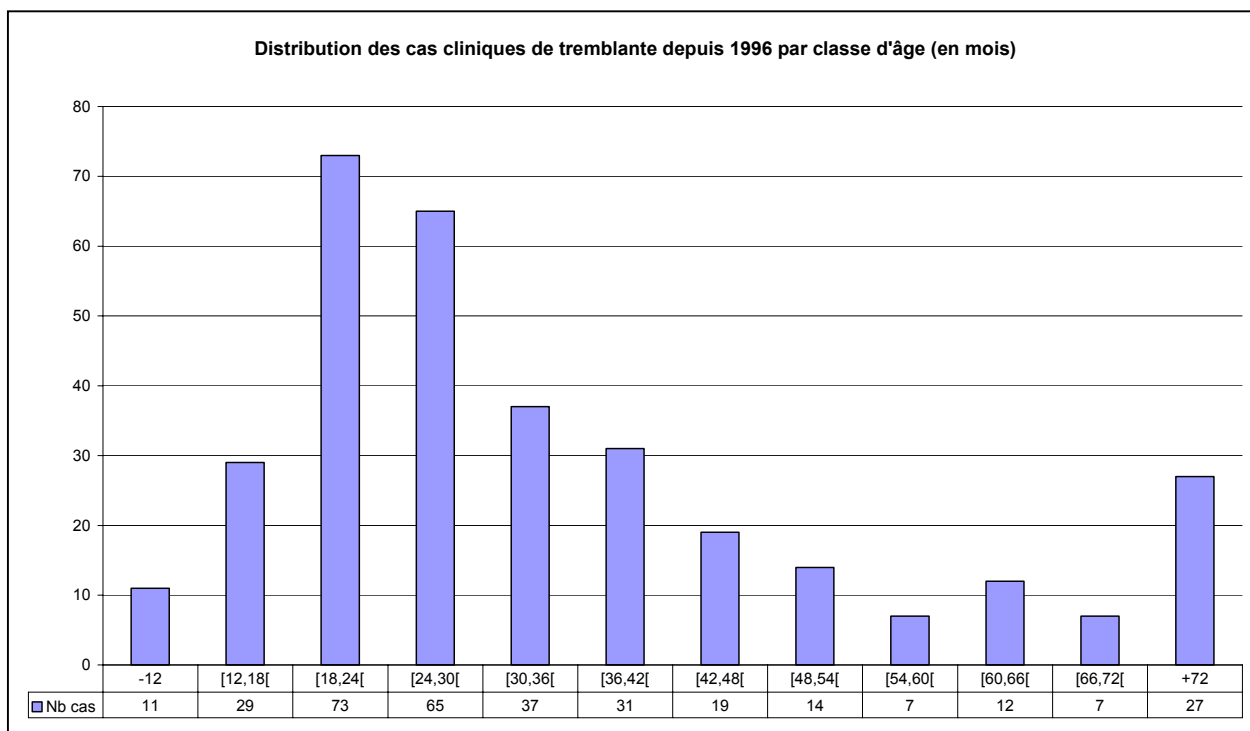
Ces données indiquent que, sur le plan théorique, l'agent de l'ESB pourrait être détectable chez des animaux infectés âgés de moins de 18 mois. A contrario, elles révèlent l'inutilité d'un test de détection de la PrPsc sur des prélèvements de système nerveux central pour les animaux âgés de moins de 6 mois.

<sup>15</sup> Bellworthy et coll., Vet Rec 2005 :

<sup>16</sup> Androletti et coll. J. Gen Virol. 2006

### Considérations d'ordre épidémiologique :

En conditions naturelles, la cinétique de dissémination de l'agent infectieux de la tremblante varie en fonction de divers paramètres (souches, génotype des animaux). Il est par conséquent difficile d'estimer quelle pourrait être la prévalence de la tremblante chez les animaux de moins de 18 mois. Les données issues de la surveillance clinique depuis 1996 révèlent un taux non négligeable de cas chez des animaux de moins de 18 mois. cf. graphe ci dessous.



Une exploitation des données issues des analyses effectuées chez de jeunes animaux dans le cadre d'abattages sanitaires pourrait permettre d'appréhender la prévalence de la tremblante en fonction de l'âge dans les troupeaux infectés.

Ainsi, le fait de tester dans le cadre d'une surveillance active, des animaux plus jeunes que ceux testés actuellement (à partir de 18 mois), en considérant une infection préférentielle dans le jeune âge, permettrait en tout état de cause de dépister plus de cas et de détecter plus tôt des élevages nouvellement infectés par une EST. En revanche cela conduirait à une augmentation significative du coût du programme par l'inclusion d'une population dans laquelle la probabilité de positivité est beaucoup faible en raison de la cinétique d'accumulation de la PrPres. De plus dans l'objectif de détection de cas d'ESB, il est vraisemblable que le risque de contamination directe des troupeaux ovins par voie alimentaire est aujourd'hui résiduel (en particulier interdiction des farines de viandes et d'os (FVO) et de certaines graisses en novembre 2000) : si l'ESB est actuellement présente dans le cheptel ovin, on peut faire l'hypothèse que les troupeaux actuellement concernés auraient été contaminés en très grande majorité soit par voie alimentaire avant 2000, soit secondairement par contamination à partir de troupeaux préalablement contaminés par voie alimentaire. Dans ces conditions, et compte tenu des caractéristiques des tests rapides utilisés actuellement (analyse effectuée sur un échantillon de système nerveux central), il paraît raisonnable de limiter le programme aux animaux de 18 mois et plus.

### ***Sixième mesure - Analyser des prélèvements de tissu lymphoïde ?***

La possibilité de mettre en œuvre des analyses sur des prélèvements groupés a été analysée par le Comité ESST de l'Afssa dans son avis du 25 mars 2005<sup>17</sup>. Il en ressort les points suivants :  
« - le mélange des prélèvements d'encéphale est possible au prix d'une faible perte de sensibilité dans le repérage des animaux infectés; pour ce qui est des prélèvements de tissus lymphoïdes, le groupage ne semble pas possible sans perte importante d'efficacité ; une hypothèse à étudier pourrait être de grouper les prélèvements d'encéphale et de tissu lymphoïde pour chaque animal,  
- le groupage devrait affecter de façon plus importante la détection des cas atypiques qui sont souvent associés à des concentrations plus faibles de PrPres,  
- compte tenu de coûts incompressibles (réalisation du prélèvement, transport, et extraction avant la réalisation du test) qui représentent plus de 50% du coût total des tests, l'économie réalisée ne porte que sur une fraction des coûts totaux».

Dans un objectif de détection la plus exhaustive des foyers d'EST dans la population ovine, on ne peut pas recommander le regroupement de prélèvements d'encéphale ni de tissus lymphoïdes de plusieurs animaux ; en revanche, la possibilité d'analyser conjointement le tronc cérébral et du tissu lymphoïde du même animal mériterait d'être explorée ; il conviendrait d'évaluer la perte de sensibilité d'une telle analyse dans le cas de l'ESB et dans le cas de la tremblante atypique. Il conviendrait également d'en étudier la faisabilité pratique en terme de mise en œuvre de l'analyse (en particulier au niveau de l'homogénéisation des prélèvements) et si c'était le cas de proposer un protocole à usage des laboratoires de première intention.

Combiner l'analyse sur l'obex et sur du tissu lymphoïde pour un même animal pourrait permettre d'identifier des cas pour lesquels la présence de PrPres est faible au niveau du système nerveux central (animaux en phase d'incubation, précédant la neuroinvasion par exemple). Le bénéfice attendu d'une telle mesure serait de détecter plus précocement des foyers. Ceci ne concernerait cependant que les isolats d'EST pour lesquels l'agent infectieux dissémine dans les organes lymphoïdes : cas de la souche d'ESB ovine par exemple, mais non de la tremblante atypique.

### ***Septième mesure - Qualifier des troupeaux ovins vis-à-vis des EST ?***

Les outils mis en place en vue de l'amélioration de la détection des EST dans la population ovine pourraient servir de base à un schéma de qualification des troupeaux vis à vis de l'ESB et de la tremblante classique. En revanche, au vu des connaissances actuelles, on ne peut pas se prononcer sur la pertinence ni l'intérêt d'un schéma de qualification vis-à-vis de la tremblante atypique. S'il s'agissait *in fine* d'une maladie survenant sans facteur d'exposition contrôlable, et atteignant tous les génotypes, ce qui semble être le cas, un schéma de qualification serait impossible à mettre en œuvre.

Comme toute qualification, elle devra s'intéresser aux modalités d'obtention du statut indemne, son maintien mais également prévoir les modalités de recouvrement du statut en cas de perte.

Les résultats des tests effectués sur des prélèvements issus de l'équarrissage et de l'abattoir pourraient être les éléments de base d'un schéma de qualification, dès lors que les animaux du cheptel concerné sont identifiés et que les différentes voies d'échappement sont correctement

---

<sup>17</sup> Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d'évolution - Actualisation en mars 2005 de l'avis de décembre 2001.

documentées. Une approche analogue à celle proposée par l'Union européenne pour qualifier le statut d'un pays vis à vis de l'ESB pourrait être utilisée. On peut d'ailleurs noter que les travaux originaux australiens qui sous-tendent cette approche s'intéressaient au niveau du troupeau et non à celui du pays<sup>18</sup>. Cette approche devrait être affinée afin de prendre en compte les informations disponibles sur le profil génétique de l'élevage concerné. Il reste que la conception et la validation d'un tel schéma de qualification (notamment pour ce qui concerne la prise en compte de ce profil génétique) ne relève pas des attributions du groupe de travail Epidémiologie des ESST animales.

Un tel schéma de qualification devrait par ailleurs faire en sorte que le ré-exposition du cheptel qualifié soit contrôlée.

En tout état de cause, une démarche de qualification devrait prendre en compte la diversité des élevages ovins, pour lesquels les risques vis-à-vis des EST, et les difficultés pratiques liées à la mise en œuvre d'une telle démarche, sont variables en fonction de la race, de la région, des pratiques d'élevage, etc. Le groupe de travail a fourni un travail de réflexion sur ces aspects (cf. Annexe 3) qui pourrait en la matière se révéler utile.

De nombreux facteurs sont en effet susceptibles de limiter les possibilités de maintien de qualification comme :

- les introductions et les contacts entre les ovins de cheptels de statuts différents ;
- les facteurs favorisant la diffusion du prion d'un élevage à un autre (transports de placenta par les chiens par exemple) ;
- les facteurs spécifiques aux ESST (le risque alimentaire s'il existe toujours au travers de la contamination des fourrages ou des lieux de stockage) ;
- et d'autres difficultés liées au suivi sanitaire des élevages (contrôle des causes de mortalité, échappements aux contrôles à l'équarrissage, problèmes dans le suivi de la qualification...).

Lors de la perte de qualification, il faut souligner que l'un des principaux facteurs limitant le retour au statut indemne des élevages concernés pourrait être le risque de persistance du prion dans l'environnement. La pathogénie des ESST chez les ovins permettant la dissémination du prion dans le milieu extérieur, tout élevage ayant connu un épisode de tremblante pourrait être susceptible de se réinfecter à partir de l'environnement.

Il sera également nécessaire de pondérer l'ensemble de ces facteurs limitant la qualification vis-à-vis des ESST selon le profil génétique des élevages ovins.

Enfin, s'agissant des ovins, étant donné la pathogénie des EST dans cette espèce et sa grande variabilité en fonction des souches, une "certification" des carcasses destinées à la consommation, même en combinant test sur système nerveux et système lymphoïde, n'assurerait pas un niveau élevé de protection du consommateur, comparable à ce qui obtenu vis-à-vis de l'ESB chez les bovins. Un tel système ne pourrait en aucun cas se substituer aux mesures de détection et de contrôle au niveau des troupeaux telles que décrites ci avant.

En résumé, le programme de surveillance active exhaustif actuel fournit les bases permettant de mettre en place une qualification des élevages à partir des résultats des tests réalisés en équarrissage et en abattoir. Il faudrait compléter ce dispositif par la mise en œuvre d'une

---

<sup>18</sup> Cannon RM (2002). Demonstrating disease freedom—combining confidence levels. Preventive Veterinary Medicine, 52 (3-4): 227-249)



identification fiable des animaux/troupeaux et prendre les mesures adéquates pour contrôler la ré-exposition des troupeaux. Il reste à estimer, pour un troupeau donné, le niveau d'assurance fourni par le schéma de qualification, en fonction du nombre de tests réalisés et en prenant en compte la structure génétique du troupeau. Il conviendra également d'estimer à partir de quel niveau de résistance génétique à l'ESB et à la tremblante classique, la circulation de ces EST devient impossible et donc la mise en œuvre de tests inutile. Ces travaux sont développés actuellement dans un projet de recherches (programme ANR développement durable, projet ACDUQ). Une des premières retombées du projet sera d'identifier les paramètres et les données qui manqueraient pour développer le modèle, et qu'il conviendrait donc de documenter, soit par la mise en œuvre de travaux expérimentaux, soit par la collecte d'informations sur les troupeaux. En dernier lieu, il faut noter qu'une telle démarche de qualification permettrait d'augmenter le niveau de sécurité pour la santé publique tout en permettant d'alléger progressivement le dispositif de surveillance du cheptel.

ANNEXE 1 : Surveillance active des EST chez les petits ruminants depuis 2002 : distribution des tests et des cas (classiques ou atypiques) par année, espèce, programme et type de test

Espèce	Plan	Test	2002					2003					2004					2005					1er trimestre 2006			
			Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues
Caprins	Abattoir	CHEMIO_ENFER											2					100					9			
		IDEXX																					6			
		LIA_PRIONICS						1										2826					1056			
		WB_PRIONICS	13233					9008					14					81165					25752			
		EL_SD_BIORAD	1651	2	2			1986	3	2		1					2									
TESEE_BIORAD						229					57					16406	2		2			4768				
Caprins	Equarrissag	CHEMIO_ENFER											43					139					90			
		IDEXX																					227			
		LIA_PRIONICS						39					313					3357					2521			
		WB_PRIONICS	10786					8603					1950					17547					7046			
		EL_SD_BIORAD	1569	13	8	1	4	2447	6	4		1					485	3	1	2						
TESEE_BIORAD						1068					2909					26941	13	9	3	1		12656	3	2	1	
Caprins	Police	LIA_PRIONICS											164					38					209			
		WB_PRIONICS	1340										21					210					11			
		EL_SD_BIORAD						1157					1													
		TESEE_BIORAD						4					1186		8			680		20			33			
Caprins	Clinique	EL_SD_BIORAD					1					1		2												
		TESEE_BIORAD											4					3		1						
Caprins	CSO	NC													1											
Espèce	Plan	Test	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues	NA	Nb prlvt	Nb cas	Nb classiq ues	Nb atypiq ues
Ovins	Abattoir	CHEMIO_ENFER											21					162					36			
		IDEXX																					35			
		LIA_PRIONICS						193					1160					1064					187			
		PRIOSTRIP																3								
		WB_PRIONICS	19081					18646					2852					3413					976			
EL_SD_BIORAD	14699	31	16	10	3	22665	45	19	21	2	214	15	7	7												
TESEE_BIORAD						2970					8211					7566	12	3	9			1896	3	1	2	
Ovins	Equarrissag	CHEMIO_ENFER											120					222					1047			
		IDEXX																					2738			
		LIA_PRIONICS						274					1803					5784					21347			
		WB_PRIONICS	13691					13146					5178					8133					36967			
		EL_SD_BIORAD	3883	121	104	3	12	4981	33	22	7	4	645	22	20	2										
TESEE_BIORAD						671					4583					8057	38	32	5			33380	93	66	24	
Ovins	Police	CHEMIO_ENFER																					6			
		IDEXX																					19			
		LIA_PRIONICS						205					922					2330					333			
		WB_PRIONICS	3217					12361					5009					3377					539			
		EL_SD_BIORAD	292					3445					19					1								
TESEE_BIORAD						316					4311		243			4105		303	2			1258		13		
Ovins	Clinique	LIA_PRIONICS										3					5					1				
		WB_PRIONICS	90					36					10					5					1			
		EL_SD_BIORAD	1					14										1								
		TESEE_BIORAD						2					13		13			33		23			15		9	1
Ovins	CSO	NC													1											
TOTAL				14																						

## ANNEXE 2

### PROJET DE PROTOCOLE DE PRELEVEMENT DE L'ISTHME ENCEPHALIQUE CHEZ LES PETITS RUMINANTS POUR LA RECHERCHE DES ESST

#### 1- Définitions préalables

L'isthme encéphalique, aussi appelé tronc cérébral, prolonge antérieurement la moelle épinière et repose sur le plancher crânien et se trouve surmonté par les hémisphères cérébraux et le cervelet. Il est constitué du bulbe rachidien, de la protubérance annulaire (pons), et des pédoncules cérébraux du mésencéphale.

L'obex est situé à la jonction du voile médullaire caudal avec le tronc cérébral, au niveau de la séparation définitive des faisceaux graciles. C'est une petite lame grise transversale reliant les deux corps restiformes.

#### 2- Objectifs

Chez les petits ruminants, le dépistage de la tremblante, dans sa forme classique mais aussi dans ses formes atypiques, ainsi que de l'ESB ovine constituent des objectifs différents qui peuvent être recherchés par des prélèvements de matériel cérébral distincts (SMR) ou communs selon les tests de dépistage de première intention employés.

Deux protocoles de prélèvements peuvent être alors proposés :

- protocole tronc cérébral (comme effectué jusqu'à présent) ;
- protocole tronc cérébral et cervelet.

#### 3- Réalisation pratique

##### 3.1- Remarques préalables

1. En équarrissage, le prélèvement doit être effectué par des vétérinaires sanitaires organisés en équipe pour assurer la régularité et la continuité des prélèvements.

2. En abattoir, il peut être effectué par les agents des services vétérinaires sous la responsabilité d'un vétérinaire inspecteur.

3. En équarrissage, une procédure d'identification des cadavres doit impérativement être mise en place. Une boucle numérotée peut être apposée par l'équarrisseur lors du ramassage du cadavre. Ce numéro sera inscrit sur le bon d'enlèvement préétabli par l'industriel. Enfin un exemplaire de ce bon sera fourni au vétérinaire préleveur.

4. La désarticulation atlanto-occipitale sera effectuée à l'équarrissage mais la tête doit rester attenante au cadavre en vue de la détermination du sexe et de la race de l'animal. Si l'atlas reste du côté céphalique, son ablation est nécessaire avant de procéder au prélèvement par le trou occipital.

##### 3.2- Modalités de prélèvement du tronc cérébral chez les petits ruminants

Elles sont adaptées à partir des modalités de prélèvements chez les bovins mais des différences anatomiques nécessitent des ajustements.

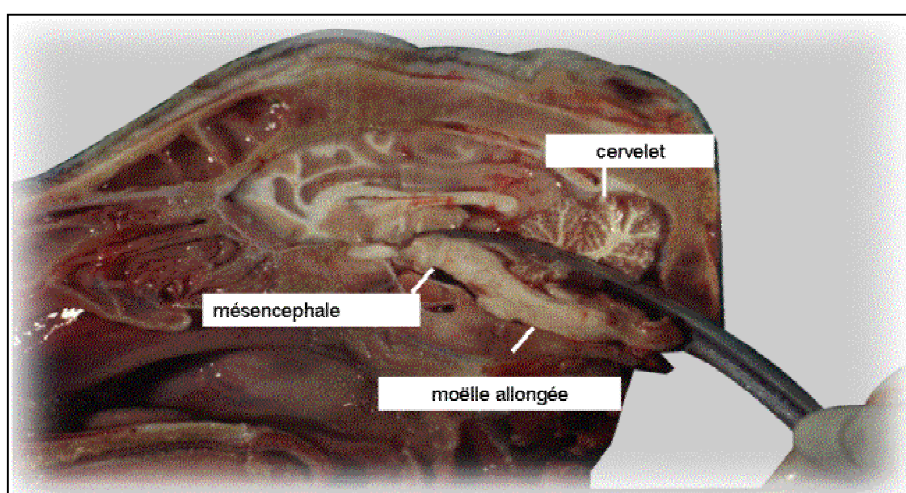
La tête est déposée sur le chanfrein et le front. Le trou occipital est bien visible avec en son centre l'extrémité du tronc cérébral. La dure-mère est bien visible, blanchâtre et résistante, elle

est séparée du bulbe par l'espace sous-arachnoïdien, la pie-mère quant à elle est adhérente au bulbe. L'espace sous-arachnoïdien des petits ruminants est plus large sur le côté ventral, à la différence des bovins.

L'introduction de la cuillère adaptée aux petits ruminants se fait donc sur le côté ventral du tronc cérébral, dos de la cuillère tournée vers le haut, avec un angle d'environ 60°. Des mouvements doux de rotation vont rompre les racines nerveuses des nerfs crâniens postérieurs et les pédoncules cérébelleux sur la face dorsale du tronc, permettant alors l'extraction du matériel d'analyse.

### ***3.3- Modalités de prélèvement du tronc cérébral et de matière cérébelleuse.***

La technique décrite par une équipe norvégienne diffère de celle précédemment exposée par la position de la tête de l'animal (posée sur ses ganaches), par le matériel utilisée (cuillère plus courbée), et par l'introduction de la cuillère sur le coté dorsal du bulbe. Dans ces conditions un peu de cervelet peut être obtenu. (cf. photo ci dessous).



(Metal spoon designed at the National Veterinary Institute of Oslo, Norway, Bjørn Bratberg)

Un aménagement pourrait être proposé. Une cuillère assez étroite (gouttière), assez courbée, avec des bords assez affûtés, et plus souple que celle utilisée jusqu'ici, permettrait de travailler dans les conditions habituelles (c'est-à-dire avec une pénétration ventrale). Une fois introduite sur le plancher du tronc, la cuillère est redressée vers la verticale (modérément en fonction de la souplesse) puis animée de mouvement de rotation, permettant de saisir du matériel cérébelleux dans la gouttière de celle ci.

Des essais peuvent être conduits en fonction de ces différentes hypothèses, mais il faut garder en mémoire que les conditions d'évaluation devront se rapprocher au mieux de la pratique quotidienne de prélèvements car l'état de conservation des cadavres de petits ruminants ne permet pas toujours une différenciation parfaite des éléments macroscopiques de diagnose des pièces anatomiques prélevées.

#### 4- Conclusion

Les objectifs visés conditionneront la technique de prélèvement de l'isthme encéphalique des petits ruminants. La recherche exclusive de la tremblante et de l'ESB ne nécessite pas d'aménagement particulier par rapport à ce qui est déjà en place.

Le dépistage de formes atypiques de tremblante passe, soit par l'utilisation d'un test unique sur le tronc cérébral, soit par l'utilisation d'un des tests agréés sur le cervelet et d'un test complémentaire sur le tronc cérébral, en sachant que les conditions de prélèvement à l'équarrissage ne garantissent pas une bonne différenciation des pièces anatomiques requises.

#### Bibliographie

- GABRIEL A., JACOBS C., SIMOENS P. Prélèvement de l'isthme encéphalique pour la recherche d'encéphalopathie spongiforme transmissible chez le mouton. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 2002, 146, 295-300.
- PAVAUX C. Neurologie des mammifères domestiques, système nerveux central. Cours magistral ENVT, 1976.
- Projet de mise en œuvre d'un programme pilote de surveillance de l'ESB, document DGAL-AFSSA-INRA, 2000.
- VENTURINI M. Matériel et méthode de prélèvement d'un échantillon de tronc cérébral pour le diagnostic de laboratoire de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (E.S.B.). *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 2000, 153, 383-390.
- VENTURINI M. Mise au point d'une technique et d'un instrument de prélèvement d'un fragment de tronc cérébral pour le diagnostic de laboratoire de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2003, 154, 8-9, 537-542.

## ANNEXE 3

### FACTEURS POUVANT LIMITER LE MAINTIEN DE LA QUALIFICATION TREMBLANTE

**Cette approche concerne la tremblante classique et l'ESB ovine si elle était détectée. Les facteurs sont fondés sur les connaissances épidémiologiques des EST ovines et sur les apports actuels de la génétique concernant la sensibilité à la tremblante classique.**

#### **1- Les facteurs généraux limitant le maintien de toute qualification**

##### ***1-1 Introductions et contacts entre animaux***

Toute introduction d'animaux provenant d'élevages non qualifiés (le principal risque de contamination réside dans l'introduction d'ovins potentiellement excréteurs, et ce au moment des mises bas). La possible excrétion par voie fécale doit également être prise en compte même si elle n'est pas formellement démontrée, ce qui implique la surveillance des mouvements des béliers.

Il peut s'agir d'achats de femelles (renouvellement ou accroissement de cheptels), d'achats ou de prêts de béliers, de contacts fortuits (dont les foires et marchés), de mélanges avec d'autres cheptels de statut inconnu, regroupement organisés (transhumance). Dans ce dernier cas la qualification pourrait compliquer la gestion des transhumances si d'autres maladies étaient déjà concernées.

##### ***1-2 Difficultés liées aux précautions sanitaires***

Les mesures hygiéniques de protection sanitaire de l'élevage qualifié vis à vis : des chiens divagants (transport de placenta ou d'agneaux malades provenant d'élevages non qualifiés), de la circulation des camions d'équarrissage, de transports d'animaux nécessitant de « réglementer » et faire respecter les modalités pour stocker les cadavres et la mise en place de rotolue.

##### ***1-3 Difficultés liées au suivi sanitaire des élevages***

- Le contrôle exact du nombre et des causes de mortalité et de réforme est actuellement impossible. Cela nécessite i) un inventaire « officiel » de tous les animaux présents en début de campagne ; ii) un enregistrement exhaustif des mortalités actuellement prévu dans le registre d'élevage à partir des bons d'équarrissage ; iii) un enregistrement des causes de mortalité aujourd'hui rarement réalisé (les éleveurs arguant, avec raison, qu'ils ne savent pas et peuvent se tromper).

Mais ces problèmes pourraient être surmontés si les contrôles étaient réalisés sur un taux significatif de brebis mortes et abattues.

- Les échappements aux contrôles équarrissage : très faible mortalité, vautours, zone mal couverte, problème d'identification, fin de semaine, difficulté d'accès, élimination, etc.
- Le suivi de la qualification : les vétérinaires sont très peu présents dans les élevages ovins et les contrôles brucellose ne sont réalisés que tous les 3 ans en production viande.

L'encadrement technique des élevages ovins (très précieux car régulier et fondé sur la confiance éleveur-technicien) va vers des allègements faute de financement..

## **2- Les facteurs spécifiques à la tremblante/ ESST limitant la qualification : *le risque alimentaire***

Existe-t-il réellement un risque vis à vis d'une exposition alimentaire compte tenu des mesures mises en place ?

Suite à l'arrêt de l'utilisation des farines animales pour tous les ruminants depuis 2000 en Europe, des contaminations résiduelles pourraient elles être dues aux contaminations des lieux de stockage (organismes stockeurs, usines et élevages) à des contaminations issus d'achats de fourrages provenant d'élevages contaminés (on sait que le prion peut persister longtemps dans la terre et que cette hypothèse avait été évoquée pour expliquer la recontamination d'élevages lors de l'éradication de la maladie en Islande).

### ***La structure génétique de la race***

Un travail génétique a débuté dès 2001 à travers le programme national d'amélioration génétique pour la résistance à la tremblante. Le premier volet du programme concerne les élevages en sélection et vaut agrément des béliers pour l'insémination.

Ce programme national est renforcé , dans les régions et les départements, par d'autres programmes de sélection génétique. L'un des buts de ces programmes est de pouvoir produire des agneaux de boucherie en n'utilisant que des béliers résistants. Il est basé sur le volontariat. Ce programme implique pour l'éleveur engagé de typer les béliers présents, d'éliminer les sensibles pour ne garder et n'acheter que des résistants.

L'application de la police sanitaire dans les élevages déclarés infectés de tremblante permet elle aussi le génotypage de la totalité des animaux adultes du cheptel et vise à l'élimination des animaux sensibles.

Il est difficilement envisageable que l'acquisition de la qualification ne prenne pas en compte le programme national et les orientations européennes.

Déjà, le 12 octobre 2005 une circulaire de la DPEI, se basant sur l'annexe II de la décision du 13 février 2003 (2003/498/CE) précise les modalités d'accès pour les éleveurs à une certification zootechnique de résistance à la tremblante, et ce avec 3 niveaux possibles :

- I. cheptels entièrement composés d'ARR/ARR,
- II. cheptels dont la progéniture est issue exclusivement de béliers ARR/ARR,
- III. cheptels dont la progéniture est issue exclusivement de béliers ARR/XXX (VRQ exclu).

Il serait également intéressant d'évaluer l'avancement du programme de sélection génotypique race par race.

La qualification nécessiterait une connaissance contrôlable et précise pour chaque élevage de la date à partir de laquelle seuls des béliers résistants ont été utilisés (luttés et inséminations) pour le renouvellement du cheptel et la vente des agneaux ; le maintien de la qualification pourrait ne prendre en compte que le renouvellement des béliers et le suivi des inséminations. (et l'engagement de ne renouveler qu'avec des mâles ARR/ARR et avec au moins des femelles ARR/XXX).