



Surveillance active de la tremblante chez les petits ruminants

Analyse du programme 2002

SYNTHESE

Eric Morignat, Géraldine Cazeau, Didier Calavas

AFSSA Lyon

2 octobre 2003

1- Contexte général

Décrite depuis plusieurs siècles, la tremblante des petits ruminants, une maladie du groupe des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), est considérée jusqu'à ce jour comme étant non transmissible à l'homme. Cependant la transmission expérimentale de l'agent de l'ESB à des petits ruminants a été réalisée en 1993 (Foster, Hope et al. 1993), conduisant à une maladie présentant des symptômes identiques à ceux de la tremblante. Cela a incité à reconsidérer le risque pour l'homme représenté par les ESST chez les petits ruminants et à chercher à avoir une meilleure connaissance de la maladie.

Jusqu'à récemment, en l'absence de tests utilisables à large échelle, la surveillance de la maladie était fondée sur la surveillance clinique. Ainsi en France, un premier réseau fondé sur le volontariat et limité à la moitié sud de la France, a été mis en place dès 1990 par le CNEVA Sophia Antipolis (Russo, Ducrot et al. 1996). Puis la tremblante des petits ruminants est devenue une maladie à déclaration obligatoire le 14 juin 1996, et ce réseau a été étendu au plan national, sur le modèle du réseau ESB (Calavas, Philippe et al. 1999). C'est un réseau de type *passif* fondé sur la surveillance clinique des ovins et des caprins de plus d'un an présentant des troubles nerveux. Les suspicions cliniques de tremblante sont essentiellement portées dans les élevages par les vétérinaires *sanitaires*, mais également dans les abattoirs lors de l'examen *antemortem* des animaux.

Comme tout réseau de type *passif*, on peut poser l'hypothèse d'un défaut d'exhaustivité d'identification et de déclaration des cas. En matière de tremblante, cela a été mis en évidence aux Pays Bas (Schreuder, de Jong et al. 1993), en Grande Bretagne (Hoinville, Hoek et al. 2000 ; Hoinville, McLean et al. 2000) et en Suisse (Baumgarten, Heim et al. 2002). En France, on peut poser la même hypothèse, notamment pour les formes sporadiques de la maladie. C'est l'une des conclusions de l'évaluation du fonctionnement du réseau tremblante menée par l'AFSSA dans le cadre de la réévaluation du dispositif d'évaluation du risque lié aux ESST animales (Dufour, Calavas et al. 2002).

C'est dans ce contexte qu'un programme européen a été défini et imposé aux états membres. L'objectif premier de ce programme de surveillance active est de fournir une estimation de la prévalence nationale de la tremblante chez les petits ruminants à partir d'un sondage dans les populations de petits ruminants de plus d'un an à l'équarrissage d'une part, à l'abattoir d'autre part. Ainsi, le règlement européen n°999/2001 prévoyait pour l'année 2002 la réalisation par la France de 60 000 tests à l'abattoir et de 6 000 tests à l'équarrissage. L'analyse de ce programme (*Programme tremblante 2002*) a été confiée à l'AFSSA par la DGAI.

2- Définition du *Programme tremblante 2002*

Le règlement européen imposait à la France la réalisation de 60 000 tests à l'abattoir et de 6 000 tests à l'équarrissage sur des petits ruminants de 18 mois et plus, mais sans préciser les proportions par espèce, entre ovins et caprins. Aussi, une étude de l'échantillonnage a été confiée par la DGAI à des épidémiologistes de l'AFSSA et de l'INRA. Cette étude visait à définir la taille de l'échantillon nécessaire pour estimer avec une précision relative donnée, la prévalence de chaque sous catégorie de la population en fonction de l'espèce (ovins/caprins) et du type de sous population (abattoir/équarrissage).

Le calcul de l'échantillonnage a été réalisé sur la base des données issues de la surveillance clinique :

- le taux d'incidence cumulée au niveau des élevages et le taux d'incidence annuelle de la maladie au sein des troupeaux ovins atteints ;

- l'hétérogénéité géographique de la prévalence de la maladie chez les ovins entre les Pyrénées-Atlantiques et le reste de la France ;
- et à partir de certaines hypothèses :
- la correction de l'incidence cumulée au niveau des élevages en fonction du taux de sous-identification/sous-déclaration des cas par la surveillance clinique (de l'ordre de 90 % d'après une étude britannique (Hoinville, Hoek et al. 2000)) ;
 - la destination des animaux testés positifs (la moitié à l'abattoir et l'autre moitié à l'équarrissage).

Le plan d'échantillonnage proposé conduisait à tester : à l'équarrissage 18 700 ovins (prévalence attendue 0,5 % ; précision relative 20 %) et 16 800 caprins (prévalence attendue 0,04 % ; précision relative 75 %) ; à l'abattoir 29 800 ovins (prévalence attendue 0,2 % ; précision relative 25 %) et 18 800 caprins (prévalence attendue 0,02 % ; précision relative 100 %).

Le plan finalement retenu par la DGAI a été un compromis entre cette étude et la recommandation européenne (cf. Tableau 1).

Tableau 1 : Répartition des prélèvements réalisés en fonction du plan d'échantillonnage retenu.

	Prélèvements	Caprins	Ovins	Total
Abattoir	prévus	18 800	41 200	60 000
	réalisés *	14 642 (78 %)	33 764 (82 %)	48 406 (81 %)
Equarrissage	prévus	16 800	18 700	35 500
	réalisés *	12 443 (74 %)	17 434 (93 %)	29 877 (84 %)
Total	prévus	35 600	59 900	95 500
	réalisés *	27 085 (76 %)	51 198 (85 %)	78 283 (82 %)

* animaux répondant aux critères d'inclusion

La DGAI, en tant que maître d'œuvre du *Programme tremblante 2002*, a défini le rôle des différents acteurs (note de service 2002/8047 du 26 mars 2002). Un nombre de prélèvements à réaliser pour chaque espèce y était défini pour chaque mois et chaque site, abattoir ou équarrissage, de manière à obtenir un taux de sondage homogène sur l'ensemble des sites, ce qui permet en théorie d'arriver à un taux de sondage homogène en fonction de l'origine géographique des animaux. En raison de l'impossibilité de connaître précisément l'âge des animaux (pas de passeport individuel comme chez les bovins), il a été décidé d'inclure dans le programme les petits ruminants ayant deux incisives définitives. Cette procédure introduit une certaine incertitude quant à l'âge des animaux inclus, dans la mesure où l'âge auquel apparaissent les incisives définitives est variable selon les races, les conditions d'élevage, etc. : ces dents apparaissent en général entre 15 et 18 mois ; et en tout état de cause après un an.

3- Déroulement du *Programme tremblante 2002*

3.1- Réalisation du plan de sondage

Le *Programme tremblante 2002* s'est déroulé d'avril à décembre 2002. 78 283 animaux, qui vérifient les critères d'inclusion, ont été prélevés et analysés par 47 laboratoires vétérinaires départementaux répartis sur l'ensemble du territoire national. Globalement, le travail des différents

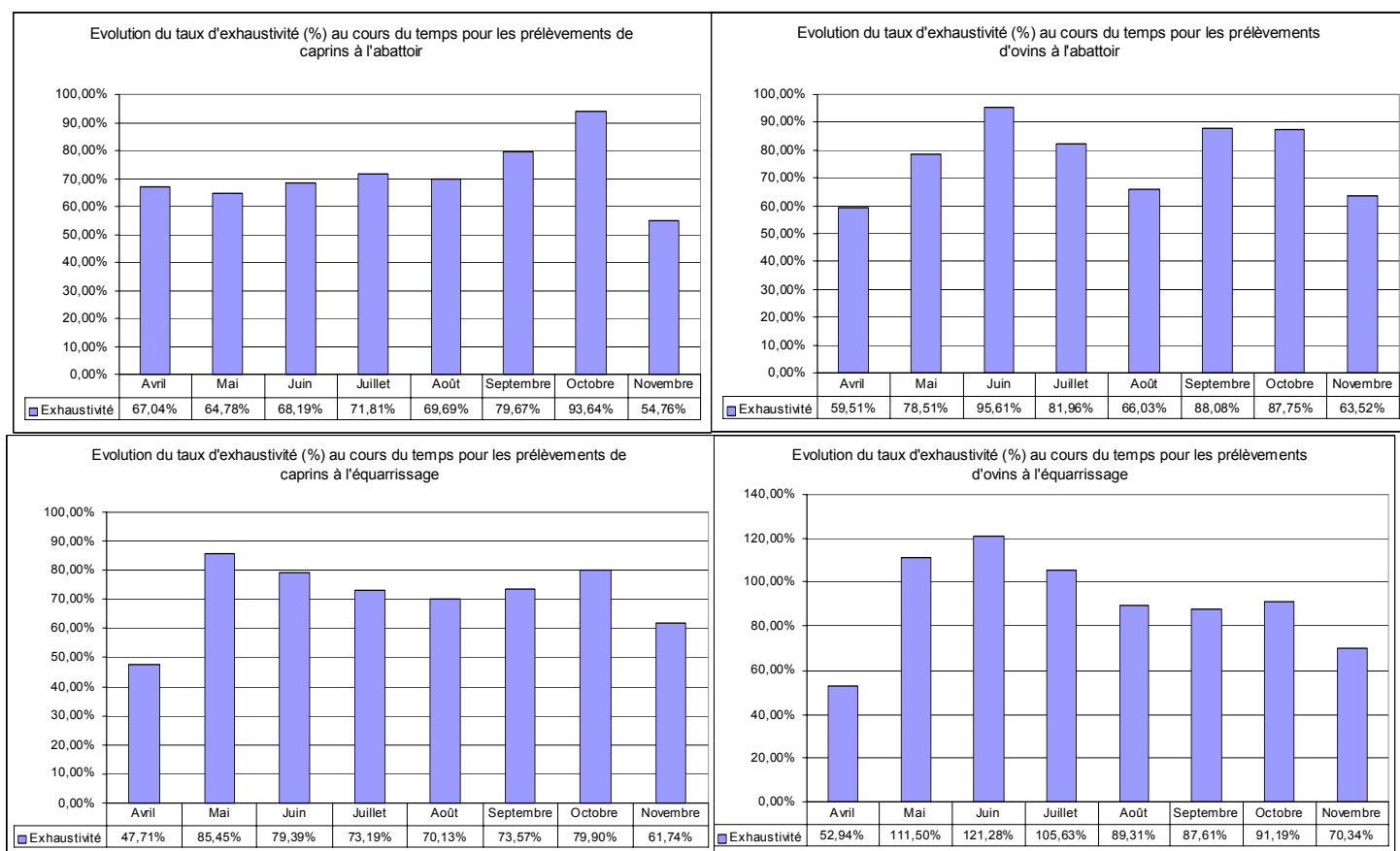
acteurs a permis de réaliser 82 % des prélèvements prévus, mais avec des variations importantes par rapport au protocole défini par la DGAI, et dans des proportions différentes selon l'espèce – ovins vs caprins –, et en fonction du type de population – abattoir/équarrissage – (cf. Tableau 1).

Dans le but de mesurer dans le temps l'écart avec le plan de sondage initialement défini, un taux d'exhaustivité mensuel a été calculé, défini comme le rapport du nombre de prélèvements réalisés au cours d'un mois pour une espèce et un site donnés sur le nombre de prélèvements prévus au cours de ce mois ; de la même manière, un taux d'exhaustivité par site a été calculé pour estimer les variations géographiques.

Cet indicateur a permis de mettre en évidence de fortes variations temporelles que ce soit pour l'espèce ou pour le type de population (abattoir/équarrissage), la plus forte amplitude étant observée à l'équarrissage pour les ovins où le taux n'atteignait que 50 % en avril et dépassait 120 % en juin (cf. Figure 1).

D'une manière générale, le *Programme tremblante 2002* a connu un démarrage lent avec une phase de rodage en avril avant que le nombre de prélèvements défini soit approché. Il y a eu ensuite une diminution du taux d'exhaustivité pendant l'été, puis à nouveau une augmentation en automne.

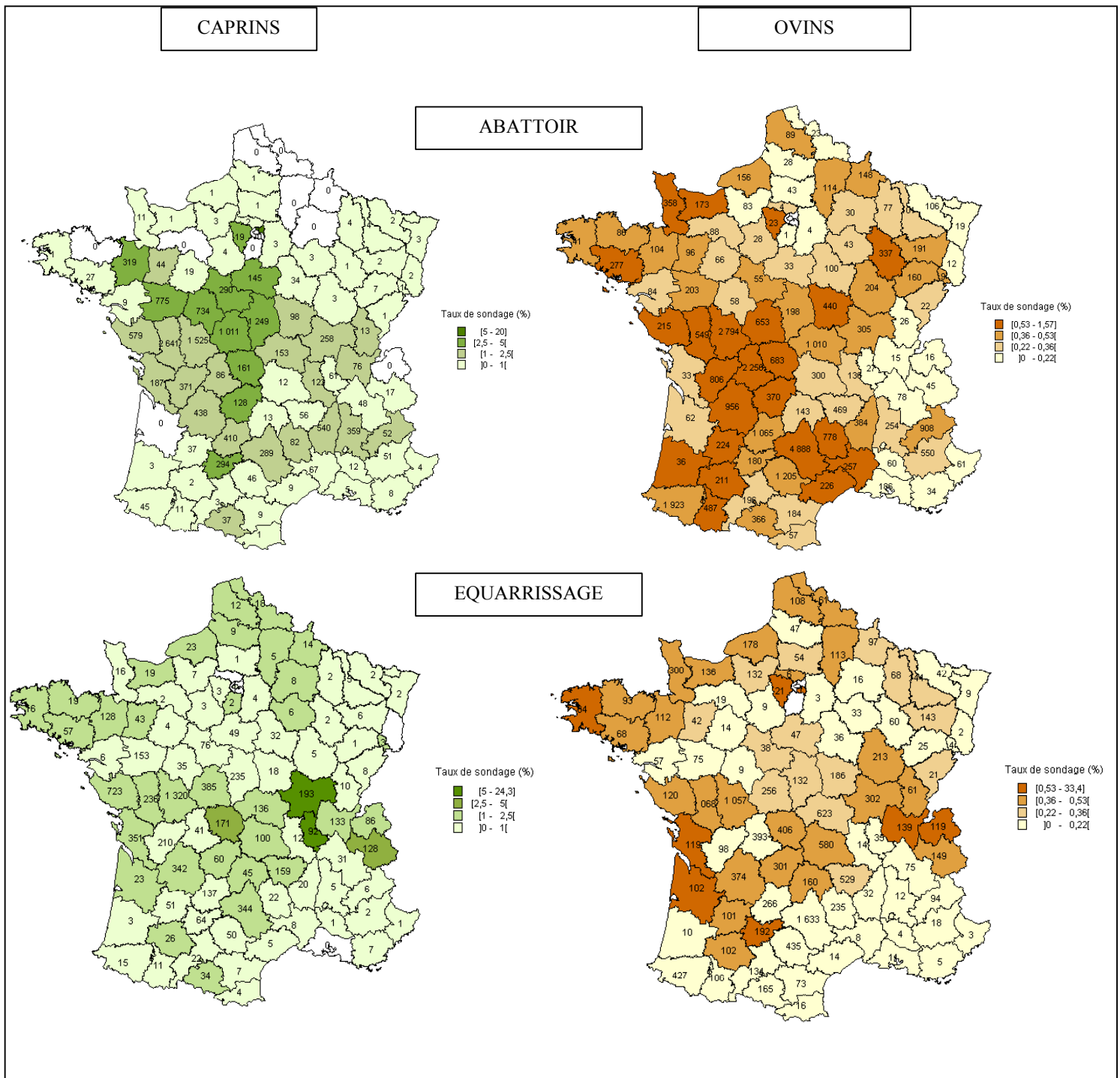
Figure 1 : Répartition mensuelle du taux d'exhaustivité du plan de sondage dans les sites prévus pour la réalisation de prélèvements.



Sur le plan géographique également, une forte hétérogénéité de cet indicateur a été observée, que ce soit pour l'espèce ou pour le type de population (abattoir/équarrissage). Aucun prélèvement n'a été réalisé dans 15 % des sites prévus pour les ovins et dans 36 % pour les caprins. Cela s'explique en partie par l'absence de mise en œuvre du *Programme tremblante 2002* dans certains abattoirs de petite taille et par l'impossibilité de réaliser les prélèvements en respectant les normes réglementaires dans deux sites d'équarrissage.

Les sites ayant réalisé des prélèvements ont présenté des taux d'exhaustivité variant de 20 à 120 %, les taux les plus faibles étant constatés pour les caprins. Cela s'est traduit par une hétérogénéité spatiale importante du taux de sondage, que ce soit pour les ovins ou les caprins, à l'abattoir ou à l'équarrissage (cf. Figure 2), ce qui introduit un biais dans la prévalence moyenne brute à partir du moment où l'on pose l'hypothèse raisonnable d'une hétérogénéité géographique de la prévalence.

Figure 2 : Répartition du nombre de prélèvements et du taux de sondage (nombre de prélèvements réalisés rapporté au nombre d'animaux adultes) en fonction du département d'origine de l'animal.



Par ailleurs, le plan de sondage dans chaque site était censé être réalisé aléatoirement. L'analyse de la distribution par troupeau d'origine des animaux prélevés un même jour dans un même site, montre que le caractère aléatoire n'a vraisemblablement pas été totalement respecté. Cela est particulièrement vrai en abattoir, ce qui s'explique en partie par le fait que les animaux de réforme sont envoyés à l'abattoir par lots. Ainsi il apparaît qu'en abattoir, près de 2000 exploitations ont eu au moins cinq animaux prélevés un même jour et que près de 500 exploitations ont eu au moins 10 animaux prélevés un même jour. On peut expliquer cela par un défaut d'information des opérateurs quant à l'importance de respecter le tirage aléatoire, et une carence d'indication sur les moyens pratiques d'y parvenir, couplée aux difficultés logistiques indéniables liées à l'organisation de l'abattage.

3.2- Réalisation des prélèvements

La technique de réalisation du prélèvement d'obex a été calquée sur celle mise au point chez les bovins (Venturini 2000) sans adaptation particulière aux petits ruminants. Or il s'avère que l'anatomie des petits ruminants nécessite une approche différente (Gabriel, Jacobs et al. 2002). Cela aboutit à ce que l'obex soit absent dans un certain nombre de prélèvements, ce qui peut entraîner une sous estimation de la prévalence : en effet, étant donnée l'hétérogénéité de la répartition de la PrPres dans l'encéphale chez les petits ruminants, il est indispensable que l'analyse soit faite sur l'obex, région cérébrale la plus riche en PrPres.

Le choix de l'outil de prélèvement est également important. Il apparaît qu'un des deux modèles de « cuillère » utilisés est mal adapté car fragile et trop lisse, ce qui rend plus difficile le prélèvement du tronc cérébral complet, c'est à dire incluant l'obex (Beloeil 2003). Il faut cependant noter que l'absence d'obex n'est pas systématiquement imputable au type de cuillère utilisé¹.

3.3- Tests diagnostiques utilisés

Deux tests de première intention ont été utilisés pour le *Programme tremblante 2002* en dépit des avis successifs de l'AFSSA. 56 451 prélèvements ont été analysés avec le test PrionicsWB® et 21 832 avec le test Biorad®, le choix du test étant laissé à l'initiative du laboratoire d'analyse.

168 animaux ont été testés « non négatifs » par les laboratoires vétérinaires départementaux. Tous ont été confirmés positifs par le laboratoire national de référence par au moins une des techniques de référence (Western Blot et/ou immunohistochimie) à l'exception d'un ovin prélevé à l'équarrissage. Pour ce prélèvement, aucune des techniques d'analyse mises en œuvre au laboratoire de référence n'a permis de confirmer son statut positif, que ce soit par les techniques de référence ou par les tests rapides. L'analyse du film du laboratoire départemental ayant conduit à rendre un résultat positif indique qu'il s'agit selon toute vraisemblance d'une contamination croisée avec un autre prélèvement positif.

Les échantillons positifs par l'un des tests rapides et confirmés par un test de référence ont été analysés plus précisément à l'AFSSA Lyon, ce qui a permis de préciser la fréquence des discordances entre ces tests. Les résultats montrent une nette différence de capacité des deux tests à identifier les animaux naturellement infectés :

- sur une série de 70 échantillons trouvés positifs par le test Biorad, seulement 51 ont été également trouvés positifs par le test PrionicsWB et confirmés par la technique de Western blot de référence ; en revanche, les 19 autres échantillons de cette série (18 moutons et une chèvre) se sont

¹ L'obex était absent dans 7,9 % des prélèvements (6 197 / 78 283) pour lesquels l'état de l'échantillon devait permettre l'identification de l'obex ; par ailleurs, l'obex n'était pas identifiable dans 8,4 % des prélèvements (6 585 / 78 283) en raison de l'état de lyse avancé du prélèvement.

révélés négatifs à la fois par la technique de Western blot de référence et par le test PrionicsWB. Ces 19 échantillons ont été confirmés positifs par examen immunohistochimique, démontrant donc un avantage de sensibilité du test Biorad par rapport au Western Blot de référence et au test PrionicsWB. Ces 19 échantillons se sont révélés négatifs par le test PrionicsWB de façon répétée, y compris lors d'analyse d'un homogénat cérébral de chacun de ces échantillons trouvés positifs par le test Biorad. Le niveau de positivité par le test Biorad de ces homogénats est souvent élevé, dans 10 cas sur 17 supérieur à 10 fois le seuil de positivité du test Biorad ;

- par ailleurs, sur une série de 99 échantillons initialement trouvés positifs par le test PrionicsWB, aucune discordance n'est apparue avec le test de Western blot de référence, ce qui suggère une absence de différence de sensibilité entre ces deux tests.

Le fait qu'il y ait une différence de sensibilité avérée entre les deux tests utilisés affaiblit considérablement la portée des résultats du *Programme tremblante 2002*. Les différences de prévalence observées sur le plan géographique ne peuvent pas être interprétées aisément, ces différences étant le résultat combiné des différences vraies de prévalence et de la différence de sensibilité des tests.

4- Gestion des données

Depuis le recueil des informations par le préleveur, en passant par la saisie des données dans les laboratoires d'analyse, et l'intégration dans la base nationale, la gestion des données a souffert à chacune de ses étapes de certains dysfonctionnements qui ont entaché les données d'incertitude.

le *Programme tremblante 2002* prévoyait que chaque prélèvement soit accompagné d'une fiche, renseignée au niveau du site de prélèvement – abattoir/équarrissage. Contrairement aux bovins, les petits ruminants circulent sans passeport individuel. On ne dispose donc pas de document d'accompagnement indiquant formellement leur date de naissance, leur numéro d'identification, leur cheptel d'origine, leur sexe et leur race. La validité des données collectées dépend donc grandement non seulement de la motivation du préleveur à aller chercher l'information, mais aussi de ses propres connaissances ainsi que de l'état de l'animal. Par exemple, la détermination de la race peut s'avérer délicate pour les ovins, et plus encore à l'équarrissage quand la mort de l'animal remonte à plusieurs jours.

Les laboratoires d'analyse avaient en charge la saisie des fiches de renseignement. A cet effet un logiciel a été développé avec l'appui de la DGAL ; cependant les laboratoires étaient libres d'utiliser le logiciel qui leur paraissait le mieux adapté. Une dizaine de logiciels différents ont ainsi été utilisés sans que leur conformité avec le cahier des charges ait été vérifiée, ce qui a conduit à des erreurs de programmation et d'interprétation pour certains d'entre eux, avec comme conséquence des erreurs du logiciel de saisie et de la base de données.

Le cahier des charges du logiciel de saisie lui même présentait des défauts de conception. Certaines variables comme le sexe, le nombre de dents et le département de provenance devaient être obligatoirement renseignées dans la base sans que la modalité « indéterminé » ait été prévue. Par conséquent, lorsque ces données n'étaient pas renseignées sur la fiche :

- la modalité « femelle », qui est la modalité par défaut dans le logiciel de saisie pour la variable « sexe », a été enregistrée ;
- le département du lieu de prélèvement a généralement été enregistré comme département de provenance de l'animal ;
- et un nombre de dents a été enregistré au hasard.

Il est probable également que des erreurs de saisie se soient ajoutées aux problèmes de logiciel. Ces erreurs sont difficilement contrôlables à moins d'effectuer une double saisie. Une estimation de ces erreurs a néanmoins pu être réalisée dans la mesure où les données sur les cas

positifs ont pu être vérifiées à partir de la fiche de renseignement de l'animal reçue à l'AFSSA Lyon. Pour les variables qui ont été comparées, les taux d'erreur étaient les suivants : 0,6 % pour la variable sexe, 5 % pour la variable race, 2 % pour la variable type de test, 8 % pour la variable cheptel de provenance et 8 % pour la variable type de programme (par exemple « Programme équarrissage » au lieu de « Programme abattoir »). Ces erreurs constatées sur les données relatives aux animaux positifs ont été corrigées avant l'analyse des données.

Enfin, les données ont été intégrées par le maître d'œuvre dans une base conçue pour des bovins, c'est à dire pour une espèce, une problématique et des données différentes, ce qui s'est traduit par une perte d'information pour certaines variables. En effet, les numéros de cheptels ont été complètement recodés par le logiciel de saisie lorsqu'ils différaient du format de la base, d'où la perte d'information dans ce cas sur l'origine géographique de l'animal.

Cette base connaît par ailleurs des imperfections conceptuelles autorisant la présence de doublons sur l'identification de l'animal, c'est à dire que plusieurs lignes peuvent avoir un même code de prélèvement et/ou un même numéro d'animal. C'est le cas de 1 863 lignes de la base de données, parmi lesquelles 112 lignes ont pu être identifiées comme des erreurs de saisie, des erreurs d'identification ou des vrais doublons et ont été exclus de l'échantillon d'étude pour l'analyse. 378 autres prélèvements ont aussi été exclus parce qu'ils étaient codés « non conforme » pour l'analyse par le laboratoire départemental d'analyse.

Après exclusion des animaux non éligibles (prélèvements non conformes ou non analysables, prélèvements en quantité insuffisante, doublons dans la base de données, vérification du statut positif à partir des données de l'AFSSA Lyon), l'analyse a été menée sur 78 283 animaux.

5- Résultats

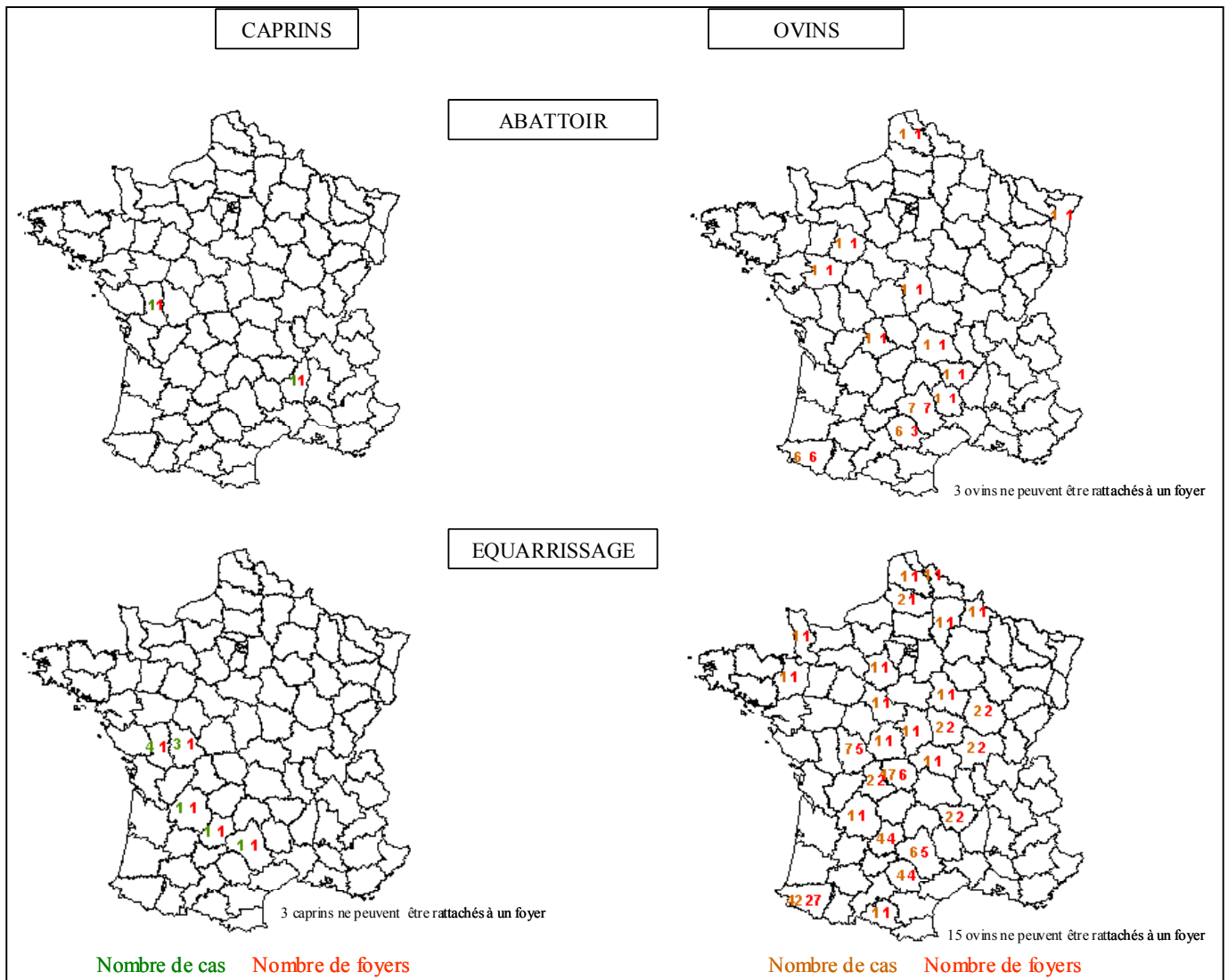
Au total, 167 cas de tremblante ont donc été détectés à l'abattoir et à l'équarrissage chez les ovins et les caprins. La répartition de ces cas est présentée par espèce et par type de population (abattoir/équarrissage) dans le Tableau 2 et la Figure 3.

Tableau 2 : Distribution des cas positifs et des foyers (exploitations dans lesquelles un cas au moins a été détecté) par espèce et type de population.

Programme	Espèce	Nombre total de cas	Nombre de cas rattachables à un foyer	Nombre de foyers
Abattoir	Ovins	31	28	25 *
	Caprins	2	2	2
Equarrissage	Ovins	121	106	76 *
	Caprins	13	10	5

* un foyer apparaît à la fois dans le programme abattoir et le programme équarrissage car deux cas issus de ce foyer ont été détectés, respectivement un par programme.

Figure 3 : Répartition des cas (1 cas = 1 animal) et des foyers de tremblante en fonction du département d'origine de l'animal.

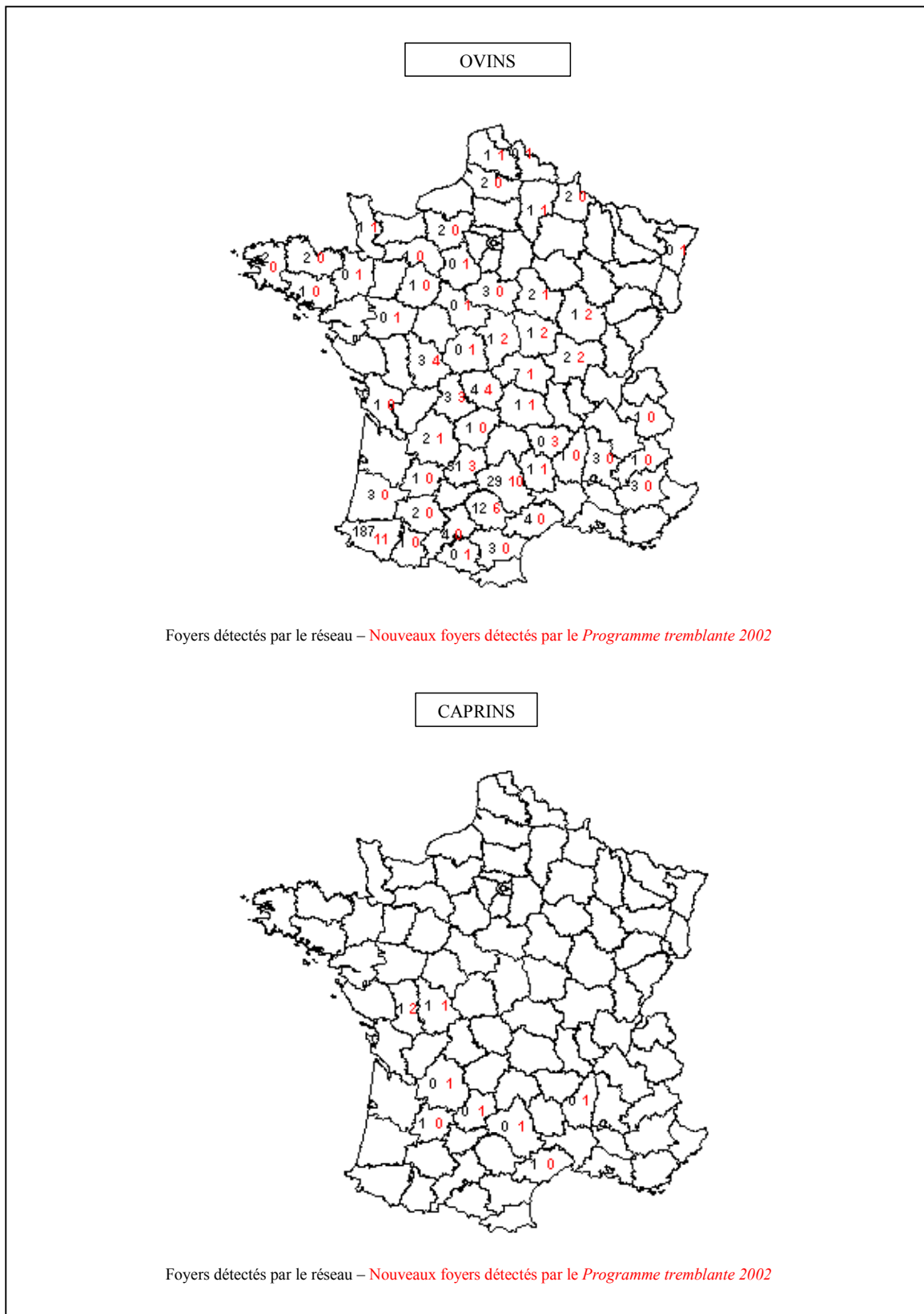


Parmi les 152 ovins positifs, 55 animaux (soit 36%) proviennent de 31 exploitations où des cas de tremblante avaient déjà été repérés auparavant par le réseau clinique.

Il est important de noter que le *Programme tremblante 2002* a mis en évidence des cas de tremblante dans lesquels la maladie n'avait pas été identifiée dans le cadre du réseau de surveillance clinique, respectivement dans neuf départements pour les ovins et quatre pour les caprins (cf. Figure 4).

De même, depuis 1990 seuls quatre foyers de tremblante avaient été diagnostiqués chez les caprins par le réseau clinique alors que 12 cas provenant de 7 foyers (plus trois cas non localisés) ont été repérés en huit mois grâce au *Programme tremblante 2002*. Chez les ovins, alors que 339 foyers incidents avaient été mis en évidence au 1^{er} août 2003 par le réseau clinique, le *Programme tremblante 2002* a permis d'en détecter 68 nouveaux. La proportion de nouveaux foyers détectés est inférieure dans les Pyrénées Atlantiques par rapport au reste de la France, le ratio *Nombre de foyers détectés par le programme / Nombre de foyers détectés par le réseau* étant respectivement de 0,06 et de 0,37. Ces chiffres doivent être interprétés avec précaution, étant données les différences de taux de sondage entre les Pyrénées Atlantiques et le reste des départements.

Figure 4 : Distribution des foyers de tremblante incidents détectés en France par le réseau clinique depuis 1990 (au 1er août 2003) et par le Programme tremblante 2002.



5.1- Prévalence

Le plan d'analyse des données prévoyait le calcul de deux prévalences, la "prévalence référence" et la "prévalence test rapide". Comme un seul cas s'est révélé discordant, et qu'il s'explique par une très probable contamination croisée, les prévalences "référence" et "test rapide" ont été considérées comme identiques.

Les prévalences brutes, avant toute correction, pour les différentes catégories sont les suivantes :

- 0,92 ‰ (IC à 95 % [0,63 ‰ – 1,32 ‰]) pour les ovins à l'abattoir
- 6,94 ‰ (IC à 95 % [5,74 ‰ – 8,32 ‰]) pour les ovins à l'équarrissage
- 0,14 ‰ (IC à 95 % [0,00 ‰ – 0,46 ‰]) pour les caprins à l'abattoir
- 1,04 ‰ (IC à 95 % [0,55 ‰ – 1,80 ‰]) pour les caprins à l'équarrissage

Selon les catégories, il y a au maximum un facteur 2 entre la prévalence mise en évidence par le *Programme tremblante 2002* et celle qui avait servi d'estimation pour le calcul de l'échantillon d'étude. Ceci est plutôt satisfaisant, compte tenu d'une part de la faible prévalence et d'autre part de l'incertitude des différentes hypothèses prises en compte pour le calcul d'échantillonnage. Cependant, si la combinaison de ces hypothèses s'avère globalement pertinente, il n'est pas possible de déterminer la validité de chacune de ces hypothèses prise individuellement. En particulier l'hypothèse d'hétérogénéité géographique de la prévalence chez les ovins semble se vérifier puisqu'il ressort un facteur 10 entre la prévalence dans les Pyrénées Atlantiques et le reste de la France, ce qui correspond à ce qui était observé par le réseau clinique, mais il faut rester très prudent en raison des différents biais évoqués précédemment.

Tout d'abord, le caractère aléatoire du recrutement est questionnable au vu de la distribution du nombre d'animaux issus d'un même troupeau et prélevés un même jour. La prévalence calculée pourrait s'éloigner ainsi de la *prévalence animal*, la probabilité de trouver un cas au sein d'un troupeau (qu'il soit atteint ou indemne) étant différente de la probabilité de trouver un cas dans l'ensemble de la population. Pour tester cette contrainte, il aurait fallu connaître par espèce les distributions des nombres d'animaux par troupeau envoyés à l'équarrissage/abattoir et les comparer aux distributions des nombres d'animaux testés par troupeau. Si ces distributions n'étaient pas significativement différentes, on aurait alors pu conclure qu'il n'y avait pas d'écart significatif au tirage aléatoire. En l'absence de ces données sur les populations d'animaux envoyés à l'équarrissage/abattoir, il n'a pas été possible de tester cet effet troupeau.

Deux scénarios extrêmes pour le calcul des prévalences ont donc été envisagés :

- Scénario 1 (prévalence minimum S1) : un animal a été tiré au sort par troupeau sans tenir compte de son statut, et les autres animaux du même troupeau ont été retirés de l'échantillonnage ;
- Scénario 2 (prévalence maximum S2) : un seul animal par troupeau a été retenu, le cas index, c'est à dire le premier prélevé s'étant révélé positif et quand il n'y avait pas d'animal positif, un animal du troupeau a été tiré au sort, et les autres animaux du même troupeau ont été retirés de l'échantillonnage.

D'autre part, le taux de prévalence moyen observé est biaisé du fait de l'utilisation de deux tests, et en raison de l'hétérogénéité géographique du taux de sondage. Un troisième scénario a donc été envisagé de façon à *redresser* les prévalences obtenues avec l'un et l'autre des tests et en introduisant une pondération par département. Une prévalence globale (S3) « théorique Biorad » a été calculée de la façon suivante :

- pour chaque département, les cas détectés par Biorad ont été distingués de ceux détectés par PrionicsWB. Le nombre de cas PrionicsWB a été « redressé » en lui appliquant le coefficient 70/51 (cf. § Tests diagnostiques utilisés) ;
- une prévalence corrigée a été calculée pour chaque département à partir du nombre de cas Biorad et du nombre de cas PrionicsWB corrigé ;

- enfin, une prévalence globale « théorique Biorad » a été calculée en pondérant la prévalence de chaque département par le nombre d'animaux adultes du département afin de s'affranchir de l'hétérogénéité démographique. Les 78 283 analyses ont été intégrées dans ce scénario.

Les prévalences calculées varient du simple au triple selon le scénario envisagé (cf. Tableau 3) :

- chez les ovins à l'abattoir, la prévalence la plus faible est de 0,92 ‰ à partir du calcul sur les données brutes et la plus élevée de 2,01 ‰ avec le scénario S2. A l'équarrissage, elle varie entre 5,33 ‰ (S1) et 14,74 ‰ (S3) ;
- chez les caprins, la prévalence à l'abattoir fluctue entre 0,14 ‰ pour le scénario S0 et 0,49 ‰ (S2). A l'équarrissage elle varie entre 0,90 ‰ (S1) et 1,20 ‰ (S2).

Tableau 3 : Prévalence par espèce et par type de population en fonction en fonction des scénarios d'hypothèses.

Espèce	Programme	Scénario	Nombre de tests	Nombre de positifs	Prévalence	IC (95 %)
Ovins	Abattoir	S0	33764	31	0,92 ‰	0,63 ‰ - 1,32 ‰
		S1	13917	17	1,22 ‰	0,71 ‰ - 1,95 ‰
		S2	13917	28	2,01 ‰	1,34 ‰ - 2,91 ‰
		S3			1,29 ‰	
	Equarrissage	S0	17434	121	6,94 ‰	5,74 ‰ - 8,32 ‰
		S1	13120	70	5,33 ‰	4,16 ‰ - 6,74 ‰
		S2	13120	91	6,94 ‰	5,59 ‰ - 8,51 ‰
		S3			14,74 ‰	
Caprins	Abattoir	S0	14642	2	0,14 ‰	0,00 ‰ - 0,46 ‰
		S1	4053	1	0,25 ‰	0,00 ‰ - 1,37 ‰
		S2	4053	2	0,49 ‰	0,00 ‰ - 1,78 ‰
		S3			0,15 ‰	
	Equarrissage	S0	12443	13	1,04 ‰	0,55 ‰ - 1,80 ‰
		S1	6655	6	0,90 ‰	0,33 ‰ - 1,96 ‰
		S2	6655	8	1,20 ‰	0,52 ‰ - 2,57 ‰
		S3			1,01 ‰	

S0 : calcul de la prévalence à partir de l'échantillon brut

S1 : calcul à partir de l'échantillon constitué d'un animal par troupeau tiré au sort

S2 : calcul à partir de l'échantillon constitué d'un animal par troupeau, le cas index en priorité

S3 : calcul global de la prévalence avec pondération en fonction du taux de sondage du département et du type de test

Ces valeurs de prévalence ont une valeur indicative. Elles donnent un ordre de grandeur pour chaque espèce et chaque sous population, mais ne doivent pas être considérées comme un intervalle de confiance de la prévalence réelle de la maladie au niveau animal. Par conséquent on ne peut nullement dire que la valeur de la prévalence de la maladie dans la population se situe avec un risque donné entre les prévalences extrêmes calculées par les différents scénarios. Cependant cette approche illustre l'importance de l'influence des différents biais recensés (utilisation de deux tests, sélection non aléatoire des animaux, hétérogénéité géographique du taux de sondage...) sur le taux de positifs.

5.2- Génotypage

Dans le *Programme tremblante 2002*, il était prévu de réaliser d'une part le génotypage des ovins positifs, et d'autre part le génotypage de 1 % des ovins choisis aléatoirement parmi ceux dont le tronc cérébral était prélevé à l'équarrissage ou à l'abattoir. Le profil génétique des animaux a été réalisé à partir du tronc cérébral pour les animaux positifs, et à partir d'un prélèvement complémentaire (morceau d'oreille) pour les autres.

Au total, le résultat du génotypage (cf. Tableau 4) est disponible pour :

- 110 ovins sur les 152 ovins positifs détectés (72 %) ;
- 496 ovins négatifs (381 à l'abattoir et 115 à l'équarrissage), soit 0,97 % des ovins négatifs prélevés.

Les données de génotypage concernant les animaux positifs sont en conformité avec les connaissances existantes en matière de sensibilité génétique ; en particulier aucun animal ARR/ARR n'a été détecté positif.

Tableau 4 : Distribution en fonction du génotype disponible pour les ovins positifs et pour les 496 ovins négatifs prélevés aléatoirement.

Programme	Génotype	Ovins prélevés aléatoirement n = 496	Ovins positifs n = 110
Abattoir	ARR/ARR	84	0
	ARR/ARQ	137	6
	ARR/AHQ	8	0
	ARQ/ARQ	88	12
	AHQ/AHQ	1	0
	ARQ/AHQ	14	2
	ARR/VRQ	26	2
	ARQ/VRQ	22	6
	VRQ/VRQ	1	1
Equarrissage	ARR/ARR	29	0
	ARR/ARQ	45	0
	ARQ/ARQ	29	49
	AHQ/AHQ	1	0
	ARQ/AHQ	1	1
	ARR/VRQ	6	2
	AHQ/VRQ	0	1
	ARQ/VRQ	3	27
VRQ/VRQ	1	1	

Le caractère aléatoire du choix des 1 % d'animaux prélevés pour le génotypage n'apparaît pas remis en cause au vu des données, sans pouvoir être évalué formellement. Le nombre d'animaux génotypés issus d'un même troupeau est assez faible en abattoir (20 exploitations ont eu plus de 2 ovins génotypés) comme en équarrissage (2 exploitations ont eu plus de 2 ovins génotypés).

La distribution des 1 % d'ovins prélevés en fonction du département de provenance des animaux présente une hétérogénéité. Par ailleurs 264 ovins génotypés sur 496 sont de race croisée ou indéterminée. Dans ce contexte, cet échantillon d'animaux génotypés est une représentation imprécise de la population ovine en France (compte tenu du faible nombre d'animaux testés par génotype) et vraisemblablement très biaisée (en raison d'un sondage hétérogène sur le plan géographique et parce que deux tests aux performances non comparables ont été utilisés). Les fréquences alléliques en

fonction de la race ont été comparées à celles obtenues dans une étude de l'INRA². Seulement 4 races sur 18 présentent des fréquences alléliques *comparables* (il faut noter que l'étude de l'INRA a été faite à partir d'un échantillon de béliers vivants, alors que le *Programme tremblante 2002* s'adressait aux ovins de plus de 18 mois envoyés à l'équarrissage ou à l'abattoir ; ces deux populations ne sont donc pas strictement comparables, en conséquence aucun test statistique n'a été mis en œuvre).

Les évaluations de la prévalence selon le génotype (cf. Tableau 5) à partir des animaux positifs génotypés comme numérateur, et à partir des données provenant des 496 animaux génotypés *au hasard* pour reconstituer un dénominateur, doivent être considérées avec une extrême prudence vu le faible nombre d'animaux génotypés, les incertitudes sur la représentativité des prélèvements génotypés par rapport à la population ovine française, le fait que deux tests aient été utilisés, et les hypothèses faites pour ce calcul.

Tableau 5 : Estimation de la prévalence en fonction du génotype.

Génotype	Ovins positifs ¹	Ovins négatifs ²	Distribution ovins négatifs			Prévalence ³			
	n = 110	n = 496	(en %)	Borne inf. 95 %	Borne sup. 95 %	Mini ⁴ (‰)	Maxi ⁵ (‰)	IC inf Mini ⁶ (%)	IC sup Maxi ⁷ (%)
ARR/ARR	0	113	22,8	19,2	26,7	0,00	0,00	0,00	0,50
ARR/ARQ	6	182	36,7	32,4	41,1	0,40	0,50	0,15	1,09
ARR/AHQ	0	8	1,6	0,7	3,2	0,00	0,00	0,00	14,20
ARQ/ARQ	61	117	23,6	19,9	27,6	6,00	8,32	4,59	10,67
AHQ/AHQ	0	2	0,4	0,05	1,4	0,00	0,00	0,00	185,30
ARQ/AHQ	3	15	3,0	1,7	4,9	1,66	4,79	0,34	13,92
ARR/VRQ	4	32	6,5	4,5	9	1,21	2,41	0,33	6,16
ARQ/VRQ	33	25	5,0	3,3	7,4	12,10	27,13	8,34	37,90
AHQ/VRQ	1	0	0,0	0	0,7	3,88	1000,00	0,00	1000,00
VRQ/VRQ	2	2	0,4	0,05	1,4	3,88	108,51	0,47	331,38

¹ : on suppose que la disponibilité du résultat du génotypage est indépendante du génotype et on confond les deux populations testées alors que les animaux envoyés à l'équarrissage ont une probabilité supérieure d'être au stade clinique de la maladie que ceux envoyés à l'abattoir.

² : on fait l'hypothèse que ces 496 animaux sont représentatifs de la population ovine française

³ : le numérateur est le nombre d'ovins positifs par génotype ; le dénominateur est l'effectif de la population d'ovins testée dans le *Programme tremblante 2002* multipliée par la proportion d'ovins en fonction du génotype, pondérée par 72 % (110 prélèvements positifs génotypés sur 152 ovins positifs)

⁴ : prévalence calculée à partir de la borne supérieure de l'intervalle de confiance de la proportion d'animaux négatifs génotypés

⁵ : prévalence calculée à partir de la borne inférieure de l'intervalle de confiance de la proportion d'animaux négatifs génotypés

⁶ : borne inférieure de la prévalence calculée à partir de la borne supérieure de l'intervalle de confiance de la proportion d'animaux négatifs génotypés

⁷ : borne supérieure de la prévalence calculée à partir de la borne inférieure de l'intervalle de confiance de la proportion d'animaux négatifs génotypés

6- Limites extrinsèques du *Programme tremblante 2002*

A la différence des programmes de surveillance active de l'ESB, il existe deux limites extrinsèques majeures au *Programme tremblante 2002* : les possibilités d'échappement et la qualité de l'identification chez les petits ruminants.

² Données incluses dans l'Avis de l'AFSSA du 18 février 2002 sur l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel.

Les possibilités d'échappement (depuis le défaut d'envoi des animaux morts à l'équarrissage jusqu'à « l'anonymisation » des animaux envoyés à l'équarrissage) est certainement un biais moins important qu'on pourrait le penser. En effet, la tremblante ayant en tout état de cause une prévalence faible, que ce soit en terme de nombre d'élevages concernés que de nombre d'animaux présentant des manifestations cliniques dans les élevages atteints d'une part, et n'étant pas d'un diagnostic clinique pathognomonique d'autre part, l'échappement « ciblé » devrait être relativement rare et ne pas jouer notablement sur la prévalence globale.

En revanche, l'absence d'identification individuelle pérenne conduit à ne pas pouvoir situer géographiquement, ni a fortiori pouvoir remonter à leur élevage d'origine, 8 155 animaux, soit 10,4 % des animaux inclus dans l'étude.

7- Synthèse

Le règlement européen n°999/2001 avait pour objectif premier d'obtenir de chaque Etat membre une estimation de la prévalence de la tremblante chez les petits ruminants, à partir d'un sondage dans les populations de petits ruminants de plus d'un an à l'équarrissage d'une part, à l'abattoir d'autre part. Il était demandé à la France de réaliser 60 000 tests en abattoir et 6 000 à l'équarrissage chez des animaux de plus de 18 mois, sans préciser la répartition entre ovins et caprins.

Un calcul d'échantillonnage a été réalisé pour estimer la prévalence dans chaque catégorie d'animaux testés en fonction de la situation épidémiologique approchée par le réseau de surveillance clinique, et un objectif de 60 000 tests en abattoir et de 35 500 tests en équarrissage a été fixé.

Le programme a été réalisé entre avril et décembre 2002. Le taux de réalisation global a été de 82 % (78 283 animaux ayant au moins deux incisives définitives), dépassant de 18 % les recommandations communautaires, mais avec des variations importantes selon l'espèce – ovins vs caprins –, et le type de population – abattoir/équarrissage. Il a également été constaté de fortes variations dans le temps et dans l'espace par rapport au plan d'échantillonnage, et des réserves peuvent être émises quant au caractère aléatoire des prélèvements.

Les données relatives à chaque animal prélevé et testé ont été recueillies grâce à une fiche de suivi du prélèvement puis enregistrées dans une base de données. La qualité de ces données est cependant entachée d'incertitude, en raison d'une part de l'imprécision des informations collectées puisque les petits ruminants n'ont pas de passeport individuel comme les bovins, et d'autre part de certains dysfonctionnements constatés aux différentes étapes de la gestion des données.

Les 78 283 animaux répondant aux critères d'inclusion ont été analysés par 47 laboratoires d'analyse départementaux répartis sur l'ensemble du territoire national. 167 prélèvements ont été confirmés positifs par une technique de référence au laboratoire national de référence parmi les 168 prélèvements analysés « non négatifs » par test rapide Biorad® ou PrionicsWB® par les laboratoires départementaux, le prélèvement non confirmé s'expliquant très vraisemblablement par une contamination croisée au niveau du laboratoire.

Les prévalences brutes calculées à partir de l'échantillon d'étude pour les différentes catégories sont la suivantes :

- 0,92 ‰ (IC à 95 % [0,63 ‰ – 1,32 ‰]) pour les ovins à l'abattoir ;
- 6,94 ‰ (IC à 95 % [5,74 ‰ – 8,32 ‰]) pour les ovins à l'équarrissage ;
- 0,14 ‰ (IC à 95 % [0,00 ‰ – 0,46 ‰]) pour les caprins à l'abattoir ;
- 1,04 ‰ (IC à 95 % [0,55 ‰ – 1,80 ‰]) pour les caprins à l'équarrissage.

L'hétérogénéité du taux de sondage, une sélection non aléatoire des animaux et l'incertitude entourant la qualité des données impose d'interpréter ces résultats avec précaution. Par ailleurs, deux

tests de première intention (PrionicsWB et Biorad) ont été utilisés. L'hypothèse d'une différence de sensibilité entre ces deux tests, posée à partir des connaissances antérieures, a été confortée par la réalisation croisée des deux tests sur les prélèvements trouvés positifs par l'un de ces deux tests, indiquant une sensibilité supérieure du test Biorad. C'est la raison pour laquelle plusieurs scénarios de prévalence ont été réalisés pour chacune des catégories d'animaux, en fonction de différentes hypothèses élaborées à partir des constats faits quant à la réalisation des prélèvements, et en raison du fait que deux tests de sensibilité différente aient été utilisés. En fonction des scénarios, les valeurs de prévalence variant d'un facteur de 1 à 3 par rapport aux prévalences brutes.

Les résultats de ce programme sont donc assortis d'une marge d'incertitude liée aux différents biais, qu'il n'est pas possible d'estimer formellement. Il n'en reste pas moins qu'ils permettent de fournir à présent un ordre de grandeur de la prévalence de la maladie en France.

D'autre part, ce programme apporte des informations sur le fonctionnement du réseau de surveillance clinique. S'il ne permet pas de quantifier le taux de sous identification/déclaration des cas par la surveillance clinique, le fait de détecter par un sondage sur une période de huit mois des troupeaux atteints dans des départements dans lesquels la maladie n'avait pas été détectée jusque là, permet d'avoir une estimation qualitative du fonctionnement du réseau clinique.

Enfin, une partie des faiblesses rencontrées lors de la mise en œuvre du *Programme tremblante 2002* a d'ores et déjà été prise en compte et corrigée pour le programme 2003. D'autres, telles que la nécessité de ne recourir qu'à un seul test de première intention, sont envisagées dans la perspective d'un programme 2004.

Références

- Baumgarten, L., D. Heim, et al. (2002). Assessment of the Swiss approach to scrapie surveillance. *Veterinary Record* 151: 545-547.
- Beloeil, I. (2003). Analyse de la mise en oeuvre du programme 2002 d'estimation de la prévalence de la tremblante chez les petits ruminants. *Rapport de stage ENSV*: 29pp.
- Calavas, D., S. Philippe, et al. (1999). Bilan et analyse de trente mois de fonctionnement du Réseau français d'épidémiologie de la tremblante des petits ruminants. *Epidémiologie et Santé Animale* 35: 43-50.
- Dufour, B., D. Calavas, et al. (2002). Evaluation du fonctionnement du réseau tremblante. *Bulletin Epidémiologique AFSSA*(5): 3-5.
- Foster, J. D., J. Hope, et al. (1993). Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. *Veterinary Record* 133: 339-341.
- Gabriel, A., C. Jacobs, et al. (2002). Prélèvement de l'isthme encéphalique pour la recherche d'encéphalopathie spongiforme transmissible chez le mouton. *Annales de Médecine Vétérinaire* 146: 295-300.
- Hoinville, L. J., A. Hoek, et al. (2000). Descriptive epidemiology of scrapie in Great Britain: results of a postal survey. *Veterinary Record* 146: 455-461.
- Hoinville, L. J., A. R. McLean, et al. (2000). *A postal survey to investigate the occurrence of scrapie in Great Britain*. ISVEE 9 - The 9th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Breckenridge, Colorado.
- Russo, P., C. Ducrot, et al. (1996). Tremblante ovine : bilan de six années d'épidémiologie dans le sud de la France (étude sur 173 cas). *Le Point Vétérinaire* 28(179): 39-42.
- Schreuder, B. E. C., M. C. M. de Jong, et al. (1993). Prevalence and incidence of scrapie in the Netherlands: a questionnaire survey. *Veterinary Record* 133: 211-214.
- Venturini, M. (2000). 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* 153: 383-390.