

Analyse intermédiaire du programme pilote de dépistage de l'ESB grâce à un test de détection rapide de la PrPres

11 décembre 2000

Le présent document comporte :

- Le texte adopté par le Comité scientifique de suivi (CSS) au vu de l'analyse des 15 000 premiers prélèvements le 1^{er} Décembre 2000 ;
- un rapport d'analyse avec ses annexes ;
- les tableaux descriptifs récapitulant les données collectées

TEXTE ADOpte PAR LE COMITE SCIENTIFIQUE DE SUIVI

Au vu des résultats des 15 000 premiers prélèvements du programme pilote, le CSS de cette étude a adopté le 1^{er} décembre 2000 les conclusions qui figurent dans le texte suivant :

« L'analyse intermédiaire du Programme pilote de dépistage de L'ESB a été réalisée le 1er décembre 2000, et porte sur les 15 000 animaux éligibles inclus dans l'étude entre le 7 août et le 24 octobre 2000.

Cette enquête exhaustive concerne trois régions - Basse Normandie, Bretagne et Pays de Loire -, et porte sur trois catégories de bovins de deux ans et plus : les bovins morts de mort naturelle, les bovins euthanasiés, et les bovins abattus d'urgence pour cause d'accident. Une phase de mise au point de deux mois a précédé le début de l'enquête.

Ces animaux font l'objet d'un prélèvement de cerveau (tronc cérébral), dans lequel la présence de la protéine prion pathologique est recherchée par le test Prionics ND dans trois LVD (laboratoires vétérinaires départementaux) - Finistère, Maine et Loire et Manche.

Les résultats positifs font l'objet d'une répétition du test Prionics, et d'une confirmation par des tests de référence (western blot, immunohistochimie) par le laboratoire de l'Afssa Lyon.

Le déroulement de l'enquête, d'un point de vue logistique et opérationnel, a été jugé très satisfaisant. Le taux d'exhaustivité (animaux inclus dans l'enquête rapporté au nombre d'animaux éligibles) est estimé à 94 %.

Trente deux animaux ont été trouvés positifs au niveau des LVD, tous confirmés par les techniques de référence. Pendant la même période, onze animaux ont été identifiés dans les

mêmes régions par le réseau de surveillance clinique. Parmi les 32 animaux trouvés positifs, un animal est né en 1998 ; il fait l'objet d'investigations complémentaires.

Un autre animal a été trouvé positif par le test Prionics dans un LVD, sans que ce résultat soit répétable, ni confirmé par les tests de référence ; il n'a pas été pris en compte dans l'analyse.

Le taux de prévalence global parmi les 15 000 premiers tests, est donc de 2,1 pour mille (intervalle de confiance à 95 % [1,5 ; 3,0]). Le taux de prévalence observé en Suisse en 2000 sur les mêmes types d'animaux est de 1,3 pour mille au 1^{er} décembre (intervalle de confiance à 95 % [0,7 ; 2,2])

Les taux de prévalence sont significativement différents entre les trois catégories d'animaux étudiés, respectivement 1,3 pour mille pour les animaux morts de mort naturelle, 3,0 pour mille pour les animaux abattus d'urgence, et 4,1 pour mille pour les animaux euthanasiés.

L'analyse en fonction de l'année de naissance des animaux fait apparaître que les animaux positifs sont nés entre 1988 et 1998, 90 % de ces animaux étant nés entre 1993 et 1995. Rapporté au nombre d'animaux étudiés pour chaque année de naissance, le taux de prévalence est plus élevé pour les animaux né en 1993, 1994 et 1995, respectivement 6,5, 8,9 et 3,2 pour mille.

L'analyse intermédiaire fait ressortir les éléments suivants :

- *une prévalence globale de 2,1 pour mille dans les trois catégories d'animaux étudiés*
- *un probable défaut de déclaration et de reconnaissance des cas par le réseau de surveillance clinique (trois fois plus de cas ont été repérés par le programme pilote que par le réseau de surveillance clinique entre le 7 août et le 24 octobre dans les mêmes régions)*
- *une prévalence élevée parmi les animaux abattus d'urgence pour cause d'accident (3,0 pour mille), catégorie qui peut entrer dans la chaîne alimentaire*
- *une prévalence élevée chez les animaux nés entre 1993 et 1995*

Les données de l'étude ne permettent pas pour l'instant de tirer de conclusions sur les taux de prévalence pour les animaux nés en 1996 et après, du fait du délai d'accumulation de la protéine prion pathologique dans le cerveau.

Actuellement, il apparaît que les animaux qui présentent de la protéine prion pathologique en quantité détectable dans leur système nerveux central sont particulièrement représentés dans la classe des animaux de plus de 48 mois et dans celle des animaux abattus d'urgence. C'est donc dans ces catégories que se trouvent les animaux les plus susceptibles de présenter un danger pour la consommation humaine.

Il convient de rappeler que l'ensemble des conclusions de l'analyse intermédiaire se rapporte au programme pilote de dépistage de l'ESB le 1^{er} décembre 2000, réalisée à partir des 15 000 animaux éligibles inclus dans l'étude entre le 7 août et le 24 octobre 2000 et ne peuvent être extrapolées à d'autres régions.

Le Comité de suivi scientifique de l'étude recommande la poursuite de l'étude jusqu'à 40000 prélèvements afin d'affiner les prévalences par sous-groupes (classe d'âge, régions, catégories de morts etc...) et d'évaluer le test Biorad par rapport au test Prionics. »

RAPPORT D'ANALYSE

INTRODUCTION

Contexte

L'étude pilote s'inscrit dans le cadre général du programme de surveillance de l'épidémie d'ESB en France, tel qu'il a été proposé par le Comité inter-ministériel sur les ESST dans son avis du 2 mars 2000 (annexe I) qui identifie trois objectifs :

- « *Estimer la prévalence des résultats positifs des tests de dépistage de PrP-res dans certains groupes à risque du cheptel bovin français, afin de fournir les bases d'une analyse de la sécurité des aliments et de définir, si nécessaire, une meilleure maîtrise du risque associé pour la santé publique. » ...* »
- « *Le deuxième objectif est complémentaire et indissociable du premier. Il s'agit de l'analyse comparative du test rapide retenu et du Western-blot conventionnel»* »
- « *Enfin le troisième objectif est d'adapter la méthodologie d'utilisation des tests rapides, développés au laboratoire, aux conditions du terrain dans les catégories pré-définies (abattages d'urgence, animaux morts et animaux abattus normalement dans des régions pilotes). »* »

Ce programme de surveillance active a été lancé en juin 2000. Jusqu'alors, la surveillance de la maladie dans le cheptel bovin reposait sur un réseau d'épidémirosurveillance clinique, dit réseau d'épidémirosurveillance passive, mis en place en France depuis 1991 (déclaration des suspicions cliniques d'ESB). La décision communautaire prévoyait que chaque Etat membre devait mettre en place un programme de test à compter de janvier 2001, qui portait pour la France sur 12000 animaux.

Au-delà de l'étude pilote, l'objectif de ce programme de dépistage de l'ESB est de rechercher le plus tôt possible avant l'apparition des signes cliniques, des animaux susceptibles d'être infectés de façon à les exclure de la chaîne alimentaire et ainsi de renforcer la protection du consommateur. Ce programme de dépistage doit permettre également de dépister des animaux ayant présenté des signes cliniques évocateurs d'ESB, mais qui n'ont pas été dépistés ou n'ont pas été déclarés, quelle qu'en soit la raison.

Un certain nombre d'études complémentaires à cette première étude apportent leur contribution d'une part à une meilleure connaissance scientifique des outils diagnostiques utilisés dans ce programme de dépistage, d'autre part à cet objectif de santé publique.

Préparation du projet

L'organisation de cette étude a été définie dans une saisine adressée à l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments le 9 mai 2000 par les trois ministères de tutelle (annexe II).

- La Direction générale de l'alimentation organise et coordonne l'étude avec les services vétérinaires départementaux, les éleveurs, les vétérinaires sanitaires, les abattoirs et les équarrières et les laboratoires vétérinaires départementaux retenus ;

- L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments:
 - assure la responsabilité scientifique de l'étude ;
 - intervient en outre, par l'intermédiaire du laboratoire de l'Afssa Lyon (Laboratoire de référence), dans la confirmation des cas positifs et l'analyse épidémiologique de l'étude ;
 - assure le bon déroulement de l'étude pour laquelle elle a mis en place le CSS (Annexe III).
- Le rôle des organismes concernés :
 - Promoteurs de l'étude : Direction Générale de l'Alimentation, Direction Générale de la Consommation, du Commerce et de la Répression des Fraudes, Direction Générale de la Santé ;
 - Maître d'œuvre opérationnel : La Direction Générale de l'Alimentation et notamment sa cellule ESB,
 - Direction scientifique de l'étude : AFSSA
 - Suivi de l'étude : CSS présidé par Marc Girard et composé de Jeanne Brugère-Picoux, Dominique Costagliola, Jean-claude Desenclos, Marc Eloit, Dagmar Heim, François Moutou, Annick Tibi, (Annexe IV)
 - Maître d'œuvre scientifique : Thierry Baron, Didier Calavas, Jean Yves Madec (AFSSA Lyon), Christian Ducrot (INRA Theix),
 - Secrétariat scientifique : Muriel Eliaszewicz, Françoise Gauchard, Sébastien La Vieille (AFSSA).

Comme cela avait été prévu initialement, les résultats de l'étude pilote validés par le CSS, sont transmis au Comité Interministériel sur les ESST sur l'avis duquel a été fondée l'étude. Ce comité peut être ainsi consulté sur les enseignements qui peuvent être tirés des résultats de cette étude en terme de santé publique.

Objectifs de l'étude pilote

- L'objectif de l'étude est de quantifier le pourcentage d'animaux en fin d'incubation d'ESB ou dont l'expression clinique n'aurait pas été détectée, au sein de l'ensemble des bovins de plus de deux ans morts, euthanasiés ou abattus d'urgence pour cause d'accident, à compter de la date de début d'étude et à concurrence d'un effectif de 40 000 animaux prélevés (soit pendant environ 6 mois), dans les trois régions administratives suivantes : Bretagne, Basse-Normandie et Pays de la Loire, qui comprennent 12 départements.
- Outre la meilleure connaissance du taux de prévalence dans chacun des trois groupes de bovins, l'étude aura pour retombées la mise au point de l'organisation pratique d'un dépistage à large échelle d'animaux en ce qui concerne les ESST (circuits de prélèvements et d'analyses) et la comparaison de certains critères de performances du test rapide (Prionics) à ceux des tests de référence (western-blot, immunohistochimie),
- Tous ces objectifs ainsi que les études complémentaires qui découlent de cette étude pilote, peuvent concourir à l'enjeu de santé publique visant à une plus grande protection du consommateur au regard du risque d'ESB.

METHODES

Etude transversale exhaustive

Il s'agit d'une étude descriptive et transversale, dont les inclusions portent de façon exhaustive sur l'ensemble des bovins éligibles, c'est-à-dire âgés de 24 mois et plus, originaires du Grand-Ouest (Basse-Normandie, Bretagne, Pays de Loire), et morts en ferme, euthanasiés, ou abattus d'urgence pour cause d'accident.

Critères d'éligibilité

Le choix de la population étudiée s'appuie sur le fait qu'il a paru légitime, dans un premier temps, de cibler d'une part une zone géographique, d'autre part, des populations d'animaux considérés comme les plus à risque.

- Les animaux non éligibles sont définis comme suit :
 - bovins originaires d'autres régions et abattus dans la zone de l'étude ;
 - bovins appartenant aux troupeaux de cas détectés ;
 - bovins dont les prélèvements ne sont pas conformes (il est tenu un décompte précis de ces situations de façon à pouvoir les intégrer dans la discussion des résultats) ;

Taille de l'échantillon

L'échantillonnage prévu a été calculé sur la base d'un taux de prévalence de l'infection compris entre 0,1 et 3 %. Le choix de cette fourchette de prévalence correspond :

- pour la borne supérieure, à la prévalence observée en Suisse en 1999, de l'ordre de 2 à 3 % sur les catégories d'animaux similaires;
- pour la borne inférieure, à une prévalence 20 fois moindre, de l'ordre de 0,1 % (le nombre de cas cliniques d'ESB observés depuis 1990 au sein de la population bovine femelle de plus de 24 mois est 22 fois plus élevé en Suisse que dans le Grand-Ouest français).

Ainsi, pour une prévalence attendue de 3 %, la taille de l'échantillon nécessaire est de 11 400 bovins et pour une prévalence de 0,1 %, la taille l'échantillon nécessaire passe à 37 000 bovins. Compte tenu des aléas possibles (ignorance de la prévalence réelle, animaux exclus...), un échantillon de 40 000 bovins a finalement été retenu pour une prévalence basse de 0,1 %, en se laissant la possibilité de réaliser une analyse intermédiaire lorsque 15 000 bovins seront inclus si les résultats objectivent une prévalence haute, de l'ordre de 3 %.

NB : Une extension de cet échantillonnage à 8500 bovins supplémentaires présentant les mêmes critères d'inclusion est réalisée sur l'ensemble du territoire national, hors Grand-Ouest. Les résultats de ces prélèvements feront l'objet d'une analyse spécifique.

Sur l'ensemble de ces 48 000 prélèvements, 12 000 sont destinés à se conformer au programme communautaire, tel que prévu par la décision 2000/374/CE et concerneront l'ensemble du territoire national.

Déroulement de l'étude

- Le tronc cérébral des bovins éligibles est prélevé par des vétérinaires sanitaires (en équarrissage) ou des vétérinaires inspecteurs (en abattoir), au moyen d'un outil à usage unique, spécifiquement conçu pour ce programme, par le *foramen occipital* ;
- Les prélèvements sont acheminés aux trois laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) retenus sur la zone géographique d'étude (Finistère, Maine-et-Loire, Manche) où ils sont analysés par le test Prionics, test immunologique choisi pour ce programme ;
- Une banque de prélèvements est constituée, sous la responsabilité du Laboratoire de Lyon, à partir des 40 000 prélèvements ;
- Le laboratoire de référence de Lyon procède à l'analyse des échantillons dépistés positifs dans les LVD en réalisant d'une part un second test Prionics, et d'autre part les tests de référence en vue d'une confirmation (Western blot et/ou immunohistochimie) ; il apporte son appui technique par une relecture systématique des films des analyses Prionics et un réexamen des échantillons d'interprétation délicate en utilisant tous les outils diagnostiques à disposition ;
- Une fiche de renseignement pour chaque animal inclus est renseignée par le vétérinaire préleveur et adressé à la DGAl où elle est validée puis saisie avant d'être transmise à Lyon
- Une enquête clinique rétrospective est menée sur chaque cas confirmé positif ;
- L'Afssa Lyon traite l'ensemble des données épidémiologiques de l'étude.

Définition des cas

La définition des cas est basée sur l'utilisation combinée de trois tests (**Tableau 1**) : i) le test Prionics basé sur la technique du Western Blot, plus aisée à mettre en œuvre sur de grands effectifs que le Western blot conventionnel; ii) le Western blot conventionnel et l'immunohistochimie *, méthodes de référence actuelles, impossibles à réaliser sur des milliers de prélèvements pour des raisons pratiques.

Dans un premier temps, le dépistage est réalisé sur tous les prélèvements à l'aide du test Prionics.

Pour tout résultat négatif sur cette première analyse, l'animal est considéré négatif.

Pour tout résultat positif par cette première analyse, le test rapide est réalisé une seconde fois au Laboratoire national de référence sur le reliquat du broyat utilisé pour la première analyse, et un test de Western blot sera mis en œuvre en parallèle. Si le test de Western blot donne un résultat négatif, un test immunohistochimique est mis en œuvre.

* Seule la technique de Western Blot est réglementairement considérée comme méthode de référence. L'Afssa a recommandé dans son avis du 12 mai 2000 de considérer l'immunohistochimie comme méthode de référence comme l'a fait par la suite le CSS.

Définition des cas positifs :

Première définition (cas « référence »)

Ainsi, si on se réfère aux tests de référence existants - Western blot et immunohistochimie -, un animal sera défini comme positif à partir du moment où le Western blot ou l'immunohistochimie donnera un résultat positif, et négatif dans les autres cas (**Tableau 1**). Les animaux positifs pourront avoir présenté un seul ou les deux tests rapides positifs. Cette définition permettra de définir un taux de prévalence dans la population étudiée sur la base des tests de référence, qualifié de manière abrégée de taux de prévalence "référence".

Deuxième définition (cas « tests rapides »)

- Dans l'hypothèse où le seuil de détection du test rapide serait inférieur à celui du test de Western blot et de l'immunohistochimie, il serait possible de rencontrer des cas (situation 4 sur le **tableau 1**) avec double test rapide positif et les tests Western blot et immunohistochimie négatifs. Il peut s'agir, soit d'animaux présentant une faible teneur en PrPres non détectable avec les deux tests de référence utilisés – auquel cas ce sont des animaux positifs –, soit de faux positifs. Malgré l' excellente spécificité du test, démontrée lors de la validation réalisée par la Communauté Européenne en 1999, il faut en effet s'attendre à observer des faux positifs si on applique le test sur des dizaines de milliers d'animaux.

- Une deuxième définition considère comme cas positifs répétables les cas dans lesquels le test rapide est deux fois positif, quel que soit le résultat du Western blot et de l'immunohistochimie. Cette définition n'est donc pas basée sur des tests de référence ; elle permettra de calculer un taux de prévalence défini sur la base des tests rapides, qualifié de manière abrégée de taux de prévalence « test rapide répétable ».

- Une troisième définition considérera comme cas positifs non répétables les cas dans lesquels le premier test rapide est positif et le deuxième test négatif, quel que soit le résultat du Western Blot et de l'immunohistochimie.

Elle permettra de calculer un taux de prévalence « test rapide non répétable ».

Trois taux de prévalence différents peuvent être ainsi distingués : l'un basé sur les tests de référence (taux de prévalence « référence »), les deux autres basés sur le test rapide uniquement, possiblement plus élevés (taux de prévalence « test rapide répétable » et « test rapide non répétable »).

Définition des cas négatifs :

Les cas négatifs sont déduits des positifs de la manière suivante :

- Cas négatif "test rapide" : deux tests rapides négatifs ;
- Cas négatif "référence" : premier test rapide négatif, ou premier test rapide positif avec analyse négative par le Western blot et l'immunohistochimie quand cette dernière a été réalisée.

La situation 2 s'entend comme excluant tout cas pour lequel n'est pas garantie avec certitude l'identité entre l'échantillon pour lequel aurait été rendu un résultat positif à l'issue du premier test rapide et celui pour lesquels les examens de confirmation par le test Prionics, le Western blot et l'immunohistochimie seraient négatifs.

	Test Rapide Prionics	Test Western Blot et/ou immuno- histochimie	Définition cas « référence »	Définition cas « tests rapides »
Situation 1	négatif		négatif	négatif
Situation 2	positif-négatif	négatif	négatif	positif non répétable
Situation 3	positif-négatif	positif	positif	positif non répétable
Situation 4	positif-positif	négatif	négatif	positif répétable
Situation 5	positif-positif	positif	positif	positif répétable

Tableau 1 : Cas positifs en fonction des résultats des tests rapides et des tests Western Blot et immunohistochimie

Suivi et analyse

Les fiches d'information et de suivi, validées par la DGAL, sont transmises à l'Afssa Lyon. Le suivi de l'étude est assuré par la tenue d'un tableau de bord réalisé par l'Afssa Lyon et communiqué toutes les deux semaines au CSS. L'analyse détaillée de l'ensemble des données est menée par les responsables scientifiques du programme pilote (D. Calavas - Afssa Lyon et Ch. Ducrot - Unité d'Epidémiologie Animale de l'INRA Theix).

RESULTATS

L'analyse intermédiaire porte sur les 15000 prélèvements issus de bovins éligibles, recueillis durant la phase active de l'étude à partir du 7 août 2000, et pour lesquels les fiches d'accompagnement des prélèvements ont été réceptionnées. Concernant ce dernier point, il est à noter que 548 animaux de plus ont été analysés au cours de la même période, tous négatifs, pour lesquels la fiche d'accompagnement (sur laquelle sont notées les caractéristiques des animaux) n'a pas été encore reçue. Les 15000 animaux analysés ont été prélevés entre le 7 août et le 24 octobre 2000.

Exhaustivité

Un des éléments d'appréciation de la qualité de l'étude est le respect de l'exhaustivité des prélèvements sur les animaux éligibles (morts, euthanasiés, abattus d'urgence, en provenance de la région Grand Ouest). Un décompte par quinzaine et par lieu de collecte des animaux éligibles est réalisé par les services vétérinaires départementaux, à partir d'un registre des entrées tenu au quotidien dans les sites d'équarrissage et les abattoirs (**Tableau 2**).

Le taux d'exhaustivité des prélèvements, calculé en rapportant le nombre de fiches de prélèvements reçues aux effectifs éligibles par quinzaine est présenté dans le tableau 2, par département et par quinzaine. Il apparaît globalement un taux d'exhaustivité de 93,2%, meilleur en équarrissage (94,1%) qu'en abattoir (86,5%). Ce taux d'exhaustivité est globalement équivalent entre départements et entre quinzaines, avec l'exception notable de la quinzaine 3 (89,2%) qui correspond à une période de grève des transporteurs routiers.

Deux paramètres font que ce taux d'exhaustivité est sous-évalué. D'une part, comme mentionné plus haut, 548 prélèvements supplémentaires ont été effectués dans la période des 15000 premiers prélèvements, pour lesquels la fiche d'accompagnement n'est pas encore parvenue au gestionnaire des données, et ne sont donc pas comptabilisés dans le taux d'exhaustivité. D'autre part, dans quelques circonstances, le nombre d'animaux éligibles au cours de certaines quinzaines était inférieur au nombre d'animaux collectés, ce qui est paradoxal. Dans ces cas là, le taux d'exhaustivité a été « plafonné » à 100 %, dans la mesure où il a été considéré qu'il ne pouvait y avoir plus d'animaux prélevés que d'animaux éligibles. Néanmoins, ces situations pourraient simplement être attribuables au report d'une quinzaine sur l'autre de certains animaux, soit dans le calcul du nombre d'animaux éligibles, soit dans le renseignement des fiches de suivi, notamment pour les animaux parvenus à l'équarrissage ou à l'abattoir le week-end ou le lundi, entre deux quinzaines. Si tel est le cas, le mode de calcul retenu sous-estimerait le taux d'exhaustivité réel de l'étude.

Aussi le calcul du taux d'exhaustivité a-t-il été réalisé d'une seconde manière, sur la totalité des cinq premières quinzaines (du 7 août au 15 octobre 2000). Durant cette période, 14 104 bovins ont été notés éligibles dans les fiches de quinzaine. Dans le même temps, 13 489 fiches de prélèvements ont été reçues, et saisies pour des animaux éligibles.

Tableau 2 : Etude de l'exhaustivité des prélèvements par site et par département pour les quinzaines 1 à 5

	Quinzaine 1	Quinzaine 2	Quinzaine 3	Quinzaine 4	Quinzaine 5	Total
Abattoir	255 / 289 88,2 %	324 / 344 94,1 %	297 / 386 76,9 %	326 / 363 89,8 %	305 / 360 84,7 %	1507/1742 86,5%
Equarrissage	2100 / 2222 94,5 %	2099 / 2193 95,7 %	2260 / 2478 91,2 %	2500 / 2638 94,7 %	2675 / 2824 94,7 %	11634/12355 94,1%
Basse-Normandie						
14	149 / 149 100 %	151 / 157 96,1 %	146 / 168 86,9 %	135 / 147 91,8 %	188 / 210 89,5 %	769/831 92,5%
50	257 / 258 99,6 %	294 / 312 94,2 %	302 / 318 94,9 %	348 / 356 97,7 %	370 / 402 92 %	1571/1646 95,4%
61	108 / 119 90,7 %	154 / 163 94,4 %	175 / 179 97,7 %	182 / 193 94,3 %	179 / 187 95,7 %	798/841 94,8%
Bretagne	514 / 526 97,7 %	599 / 632 94,7 %	623 / 665 93,6 %	665 / 696 95,5 %	737 / 799 92,2 %	3138/3318 94,5%
22	367 / 425 86,3 %	354 / 395 89,6 %	350 / 462 75,7 %	411 / 453 90,7 %	479 / 548 87,4 %	1961/2283 85,8%
29	178 / 186 95,6 %	59 / 60 98,3 %	179 / 268 66,7 %	225 / 244 92,2 %	237 / 256 92,5 %	878/1014 86,5%
35	291 / 307 94,7 %	305 / 318 95,9 %	274 / 295 92,8 %	301 / 315 95,5 %	324 / 334 97 %	1495/1569 95,2%
56	404 / 439 92 %	408 / 414 98,5 %	368 / 371 99,1 %	478 / 482 99,1 %	467 / 481 97 %	2125/2187 97,1%
Pays de Loire	1240 / 1357 91,3 %	1126 / 1187 94,8 %	1171 / 1396 83,8 %	1415 / 1494 94,7 %	1507 / 1619 93 %	6459/7053 91,5%
44	5 / 5 100 %	7 / 7 100 %	8 / 10 80 %	13 / 13 100 %	14 / 18 77,7 %	47/53 88,6%
49	144 / 164 87,8 %	151 / 157 96,1 %	160 / 181 88,3 %	179 / 209 85,6 %	169 / 180 93,8 %	803/891 90,1%
53	9 / 10 90 %	4 / 4 100 %	9 / 11 81,8 %	12 / 14 85,7 %	8 / 8 100 %	42/47 89,3%
72	89 / 93 95,6 %	125 / 126 99,2 %	105 / 110 95,4 %	102 / 119 85,7 %	128 / 131 97,7 %	549/579 94,8%
85	354 / 356 99,4 %	411 / 424 96,9 %	481 / 491 97,9 %	440 / 456 96,4 %	417 / 429 97,2 %	2103/2156 97,5%
	601 / 628 95,7 %	698 / 718 97,2 %	763 / 803 95 %	746 / 811 91,9 %	736 / 766 96 %	3544/3726 95,1%
Total	2355 / 2511 93,7 %	2423 / 2537 95,5 %	2557 / 2864 89,2 %	2826 / 3001 94,1 %	2980 / 3184 93,5 %	13141/14097 93,2%

**Numéros et date
des quinzaines :**

Q1. 07/08/00 - 20/08/00 Q2. 21/08/00 - 03/09/00 Q3. 04/09/00 - 17/09/00 Q4. 18/09/00 - 01/10/00 Q5. 02/10/00 - 15/10/00

Pour chaque cellule de ce tableau, le numérateur représente le nombre de bovins éligibles prélevés pour lesquels les données de la fiche de suivi ont été saisies et le dénominateur, le maximum entre le nombre de bovins éligibles des fiches de quinzaines et le nombre de bovins éligibles pour lesquels les données de la fiche de suivi ont été saisies.

Enfin, à la date du 17 octobre (cinquième quinzaine plus deux jours, temps maximum d'acheminement du prélèvement au laboratoire et d'analyse), 397 analyses avaient été faites sans que la fiche d'accompagnement n'ait encore été reçue et saisie. Compte tenu de ces données, le taux d'exhaustivité global des prélèvements peut être estimé à 98,5% (13489 + 397 / 14104).

Prévalence globale

Trente deux animaux ont été trouvés positifs au niveau des LVD, tous confirmés par les techniques de référence. Pendant la même période, onze animaux ont été identifiés dans les mêmes régions par le réseau de surveillance clinique. Parmi les 32 animaux trouvés positifs, un animal serait en 1998 ; il fait l'objet d'investigations complémentaires.

Un autre animal a été trouvé positif par le test Prionics dans un LVD, sans que ce résultat soit répétable, ni confirmé par les tests de référence ; il a pas été pris en compte dans l'analyse comme un cas négatif, conformément au protocole.

Trente deux animaux positifs sur 15 000 équivalent à un **taux de prévalence de 2,1 pour mille dans les catégories de bovins étudiées à savoir les bovins de plus de deux ans, morts naturellement, euthanasiés, ou abattus d'urgence pour cause d'accident**. Compte tenu de l'effectif d'étude, 15000 animaux, on peut statistiquement (intervalle de confiance au seuil de 5% calculé par la méthode binomiale exacte) estimer le taux de prévalence réel de l'infection sur ce type d'animaux et dans cette région et pour la période considérée comme étant **compris entre 1,5 et 3,0 pour mille animaux**.

Prévalence par sous catégories

Trois catégories d'animaux ont été analysées, les animaux morts, les animaux euthanasiés, et les animaux abattus d'urgence pour cause d'accident. Le taux d'atteinte dans chacune des trois catégories est le suivant (**tableau 3**) :

Type de mort	Nombre de prélèvements	Nombre de cas	Taux de prévalence	IC (95%)
Mort naturelle	9269	12	1,3‰	[0,7 ‰ ; 2,3 ‰]
Euthanasie	3643	15	4,1‰	[2,3 ‰ ; 6,8 ‰]
Abattage d'urgence	1687	5	3,0‰	[1,0 ‰ ; 6,9 ‰]
Manquant	401	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 9,2 ‰]
Total	15000	32	2,1‰	[1,5 ‰ ; 3,0 ‰]

Tableau 3 : Taux de prévalence en fonction du type de mort

En termes d'analyse, il apparaît que les cas détectés par l'étude pilote parmi les 15000 premiers animaux analysés sont nés entre 1988 et 1998, 91 % d'entre eux étant nés en 1993, 1994 et 1995. Rapporté au nombre d'animaux étudiés pour chaque année de naissance, et avec les précautions liées à l'imprécision de cette estimation vue précédemment, le taux d'atteinte paraît le plus élevé pour ces trois années.

Concernant le taux d'atteinte en fonction de l'année de naissance des animaux, il est présenté dans le **Tableau 4** de l'analyse intermédiaire

Année de naissance	Nombre de prélèvements	Nombre de cas	Taux de prévalence	IC (95%) (Méthode binomiale exacte)
1998	2058	1 *	0,5‰	[0,0 ‰ ; 2,7 ‰]
1997	3216	0	0,0‰	[0,0‰ ; 1,1 ‰]
1996	2294	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 1,6 ‰]
1995	1859	6	3,2‰	[1,2 ‰ ; 7,0 ‰]
1994	1693	15	8,9‰	[5,0 ‰ ; 14,6 ‰]
1993	1239	8	6,5‰	[2,8 ‰ ; 12,7 ‰]
1992	857	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 4,3 ‰]
1991	595	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 6,2 ‰]
1990	388	1	2,6‰	[0,0 ‰ ; 14,3 ‰]
1989	260	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 14,1 ‰]
1988	188	1	5,3‰	[0,0 ‰ ; 29,3 ‰]
1987	135	0	0,0‰	[0,0 ‰ ; 27,0 ‰]
1986	99	0		
1985	49	0		
1984	38	0		
1983	12	0		
1982	7	0		
1981	3	0		
1980	4	0		
1979	2	0		
1977	2	0		
1974	1	0		
1971	1	0		

Tableau 4 : Taux de prévalence en fonction de l'année de naissance

* Ce cas est actuellement en cours d'investigation

Données préliminaires sur l'enquête clinique rétrospective

Pour chacun des 32 cas positifs, il est prévu une enquête clinique rétrospective menée sur l'exploitation. Cette enquête est actuellement en cours. Les informations collectées concernent les circonstances de la mort de l'animal, l'historique des troubles depuis le début présumé de la maladie, le récapitulatif des visites du vétérinaire (Annexe V). Néanmoins, sur 26 cas pour lesquels les informations ont été transmises à l'Afssa, il apparaît d'ores et déjà que la répartition des exploitations selon leur statut mono ou pluri-espèces est la suivante :

- 20 exploitations ne comportent que des bovins ;
- 4 exploitations comportent des élevages de bovins et de volailles ;
- 2 exploitations comportent des élevages de bovins et de porcs

Phase de montée en charge

La phase de montée en charge a correspondu au délai nécessaire pour que l'ensemble des acteurs de terrain impliqués dans l'étude aient pu acquérir la maîtrise du protocole au travers des différentes procédures (techniques de prélèvements en abattoir et en équarrissage, technique d'analyse à l'aide du kit Prionics, rodage des circuits logistiques...) de façon à permettre, au 07 août 2000, un démarrage simultané des inclusions, conformément au protocole, dans les douze départements participant à l'étude pilote. Pendant cette phase de montée en charge, un essai inter-laboratoire a été organisé par le Laboratoire de référence de l'AFSSA Lyon, dont les résultats ont été satisfaisants. Les résultats de cette première phase n'ont pas été inclus dans cette analyse intermédiaire, car les prélèvements n'étaient pas réalisés de manière exhaustive pendant cette période. En outre, certains de ces prélèvements n'ont pas été analysés au niveau des laboratoires vétérinaires départementaux mais au niveau du laboratoire de l'AFSSA Lyon. Néanmoins, dix cas ont été enregistrés pendant cette phase, qui ne figurent donc pas dans les tableaux de résultats de l'analyse intermédiaire. Ils ont par contre été notifiés de la même façon que les cas inclus dans l'analyse intermédiaire et figurent dans la liste des cas notifiés par le Ministère de l'Agriculture.

DISCUSSION

I. Etude pilote

Exhaustivité

Le taux d'exhaustivité observé, de 98,5 %, est excellent en soi et montre une très bonne application du protocole d'étude. Il a légèrement diminué lors de la grève des transporteurs routiers.

Néanmoins, même excellent, ce taux ne peut garantir l'absence de biais possibles dans l'analyse du taux d'atteinte des animaux, qui seraient liés à des malversations/fraudes ; en effet, le taux de prévalence étudié est tellement faible en absolu (quelques pour mille) qu'un

taux de non collecte de quelques pour-cent peut avoir des conséquences importantes sur le résultat si ces quelques pour-cent ne sont pas répartis aléatoirement. C'est la raison pour laquelle il est envisagé des investigations rétrospectives complémentaires dans les sites présentant le taux de non collecte le plus élevé, de manière à cerner les raisons de l'application imparfaite du protocole.

Prévalence globale

Le taux global de prévalence observé dans la population d'étude (morts, euthanasiés, abattus d'urgence pour accident), de 2,1‰, se situe dans le haut de la fourchette (0,1‰ – 3‰) qui avait été définie lors de l'élaboration de l'étude, et est proche du taux de prévalence observé en Suisse sur les mêmes types d'animaux à la date du 24 novembre 2000 (site internet Bvet)— animaux envoyés à l'équarrissage et animaux abattus d'urgence (les animaux abattus d'urgence en Suisse correspondent, en ce qui concerne la situation française, à la somme des animaux euthanasiés et des animaux abattus d'urgence pour accident). En 1999, le taux d'atteinte observé en Suisse était de 2‰, et il est de 1,3‰ en 2000 au 24 novembre (Intervalle de confiance à 95% [0,7‰ – 2,2‰]).

Prévalence par sous catégories

L'étude du taux d'atteinte par type de mort et par année de naissance porte sur des sous-populations d'effectifs insuffisants, à ce stade, pour obtenir une bonne précision des taux d'atteinte dans ces différentes catégories d'animaux (voir l'étendue des intervalles de confiance de ces estimations au seuil de 5%). En d'autres termes, le point intermédiaire sur les 15000 premiers animaux analysés permet une estimation globale du taux de prévalence sur la population étudiée, mais ne permet pas en revanche une bonne estimation des taux d'atteinte par catégorie d'animaux.

Il est à noter une prévalence élevée de l'infection parmi les animaux abattus d'urgence pour cause d'accident (3,0 pour mille), catégorie qui peut entrer dans la chaîne alimentaire. Par ailleurs, on observe aussi une prévalence élevée chez les animaux nés entre 1993 et 1995.

Biais

Le biais potentiellement le plus important dans cette étude concernerait « l'échappement » d'animaux éligibles à l'étude. C'est la raison pour laquelle diverses mesures ont été prises pour contrôler ce risque dès le lancement de l'étude.

Premièrement, l'inspection ante-mortem a été renforcée pour éviter l'introduction, sur les chaînes d'abattage, d'animaux malades ou accidentés, ceci sur l'ensemble du territoire national.

Deuxièmement, afin d'éviter que des animaux déclarés accidentés soient adressés à des abattoirs en dehors de la région d'étude, il a été mis en place une surveillance renforcée des abattages d'urgence dans l'ensemble des abattoirs susceptibles de recevoir des animaux abattus d'urgence, sur le pourtour de la région d'étude. Les animaux abattus d'urgence dans ces abattoirs et provenant de la zone géographique d'étude ont été prélevés et analysés.

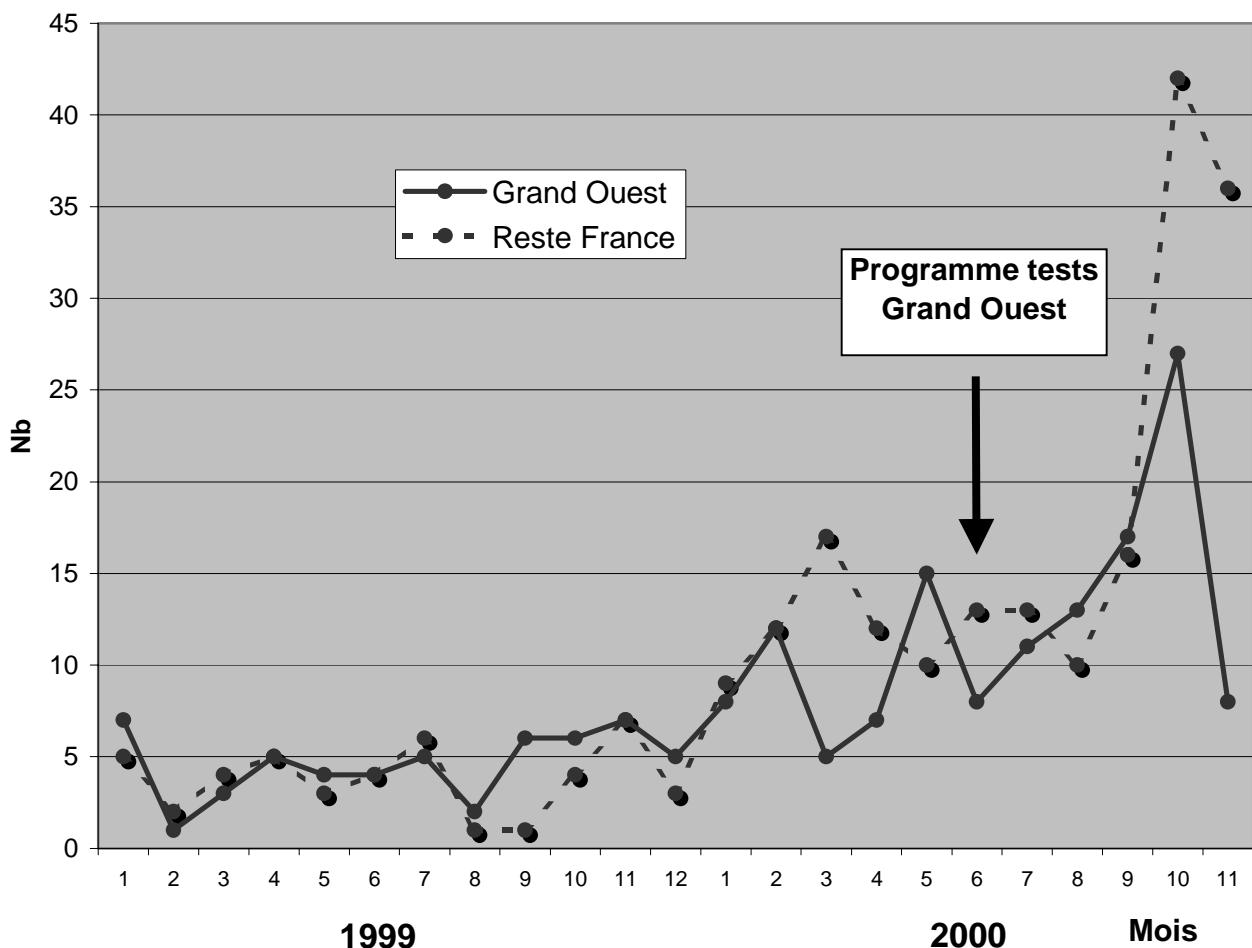
En ce qui concerne l'équarrissage, il n'y avait pas de risque que des animaux morts soient expédiés sur un autre site d'équarrissage car le ramassage des cadavres est organisé sur la base de zones d'exclusivité des opérateurs. Concernant les cadavres, le risque qu'ils soient enfouis sur l'exploitation a été considéré comme négligeable.

Troisièmement, il a été mis en place un registre des entrées d'animaux dans les équarrissages (cela existant déjà pour les abattoirs), afin de garder une trace écrite précise des informations sur ces animaux, y compris identification, date de naissance, origine géographique. Les Services vétérinaires ont renseigné chaque quinzaine des fiches dénombrant par site les animaux éligibles entrés sur le site. C'est sur cette base qu'il a été observé un taux d'exhaustivité des prélèvements par rapport au nombre d'animaux éligibles de 98,5%.

Epidémiosurveillance active / passive en France

Afin de mesurer l'impact possible du programme pilote sur le taux de déclaration des suspicions d'ESB, une analyse du nombre de suspicions a été réalisée en 1999 et en 2000, dans la zone d'étude et sur le reste de la France.

Nombre de suspicions d'ESB en 1999 et 2000



Il apparaît que le nombre de déclarations de suspicions cliniques a augmenté fortement entre 1999 et 2000. Cette augmentation n'est pas plus sensible dans la zone d'étude à partir de juin 2000.

Au cours de la période d'étude (7 août – 24 octobre 2000), et dans la zone géographique concernée par le projet, le réseau de surveillance passive basé sur l'observation de suspicions cliniques a permis de dépister 11 cas d'ESB alors que le dépistage par les tests sur les animaux morts, euthanasiés ou abattus d'urgence a permis d'en dépister 32, ce qui fait un ratio de 1 pour 3.

Ceci peut être comparé à la situation suisse (données du site Internet BVET au 24/11/00), en notant cependant que leur protocole comprend en plus l'analyse avec le test Prionics d'un quota d'animaux passés normalement sur les chaînes d'abattage. En 1999, le réseau de surveillance passive a permis de dépister 25 cas d'ESB, les tests sur animaux morts et abattus d'urgence 22 cas, et les tests sur animaux abattus normalement 3 cas, ce qui fait un ratio de 1 pour 1 pour les deux catégories pertinentes pour l'analyse. Au 24 novembre 2000, le ratio est du même ordre, avec 17 cas repérés par le réseau de surveillance passive, contre 15 cas par les tests sur animaux morts et abattus d'urgence (aucun sur des animaux abattus normalement).

Sur la base de ces données partielles, il apparaît probable qu'existe un défaut de déclaration et de reconnaissance des cas par le réseau de surveillance clinique fondé sur un réseau d'épidémirosurveillance passive ; la surveillance active grâce aux tests apparaît une méthode complémentaire efficace de dépistage des cas d'ESB. Des précisions sur ce point seront apportées grâce à l'analyse des enquêtes cliniques rétrospectives sur les animaux dépistés positifs avec le test Prionics, en cours de réalisation actuellement. Elles permettront :

- soit d'identifier un éventuel point de faiblesse dans le système d'épidémirosurveillance passif (insuffisance des déclarations, signes cliniques frustres etc...)
- soit de mettre en évidence les limites intrinsèques du rendement de tout système d'épidémirosurveillance passif.

II. Caractéristiques des tests utilisés

Le test Prionics utilisé dans l'étude pilote est caractérisé par une relative facilité de mise en œuvre, l'adaptant en particulier à la possibilité de traiter des séries d'échantillons nombreux. En pratique, une équipe technique de 6 personnes peut gérer dans une chaîne d'analyse intégrée dans un programme d'ensemble jusqu'à 144 échantillons par jour.

Dans un seul des cas examinés jusqu'à présent, ce test s'est avéré positif alors que le Western blot de confirmation n'a pas permis de détecter la protéine prion anormale après ultracentrifugation. Ce cas, qui était faiblement positif par le test Prionics, montrait également des dépôts extrêmement localisés de la protéine prion anormale par immunohistochimie. Compte tenu de l'hétérogénéité de la distribution de cette protéine, y compris dans des homogénats cérébraux, ces données ne sont pas suffisantes pour conclure à un avantage de sensibilité de l'un ou l'autre de ces méthodes. Elle suggère au contraire que les limites de détection de ces tests pourraient être assez proches les unes des autres, les cas d'interprétation difficile pour une technique l'étant également pour les autres.

Ces données ne suggèrent pas d'avantage décisif de l'un ou l'autre de ces tests quant aux possibilités de détecter éventuellement des animaux plus précocement au cours de la période d'incubation, mais seule une analyse comparative dans un système expérimental d'infections

de bovins permettant d'évaluer ces tests par rapport à la cinétique d'accumulation de la protéine prion anormale pourra véritablement répondre à cette question.

Dans les comparaisons des différentes techniques, le facteur majeur apparu lors de l'analyse des cas a été lié à la très importante variabilité du taux de protéine prion anormale dans une même région cérébrale. Correspondant à des données bien identifiées dans cette maladie, ces variations peuvent être à l'origine de discordances apparentes dans les cas pour lesquels le niveau de protéine prion anormale se situe au voisinage des limites de détection des tests. Ces difficultés peuvent devenir particulièrement critiques dans un contexte dans lequel la qualité des échantillons n'est pas optimale, en relation avec le contexte même dans lequel ces échantillons sont collectés, notamment chez des bovins qui ont été trouvés morts. Dans de tels échantillons l'identification de la région de l'obex, dans laquelle la teneur en protéine anormale est la plus importante, ne peut être identifiée, et la sensibilité de la technique pourrait ainsi ne pas être correctement évaluée par des études sur de tels échantillons.

Dans l'analyse des cas, l'immunohistochimie s'est révélée extrêmement précieuse. En effet, comme dans l'expérience suisse, cette technique se révèle très robuste, en permettant parfois d'identifier la protéine anormale dans des prélèvements de très mauvaise qualité. Cette expérience justifie parfaitement d'intégrer cette technique comme méthode de référence.

Points particuliers de l'étude

1. Cas d'un animal positif né en mai 1998

Dans le cadre de cette étude, un animal né en mai 1998 a été détecté comme positif par le test Prionics, cette positivité a été ensuite confirmée au laboratoire de l'Afssa Lyon (Prionics, Western Blot de référence).

Des investigations complémentaires sont menées :

- une enquête rétrospective approfondie sur l'exploitation dont est issu l'animal ;
- des analyses génétiques complémentaires sur d'autres animaux de cette exploitation ainsi que sur les animaux prélevés concomitamment à l'animal en cause ;
- des analyses sur les informations disponibles quant aux conditions dans lesquelles ont été faites ce prélèvement.

Il est apparu :

- d'une part, qu'une exclusion de filiation entre l'animal dont est issu le prélèvement et le taureau, père présumé de cet animal, a pu être établie ;
- d'autre part, qu'un animal issu de l'exploitation avait présenté des signes cliniques évocateurs d'ESB.

Les investigations se poursuivent sur ce cas qui a été inclus dans les résultats de l'analyse intermédiaire, dans l'attente de pouvoir répondre aux différentes questions qu'il pose.

2. Les cas ayant posé des difficultés d'interprétation

Un cas ayant posé des difficultés d'interprétation a été noté lors des 15 000 premiers tests. Ce prélèvement a été classé initialement négatif par le LVD. La relecture attentive du gel transmis à l'Afssa Lyon a permis de reclasser ce prélèvement, qui est positif en Prionics de façon répétée, au LVD et à l'AFSSA Lyon, positif avec le test Biorad et positif en immunohistochimie. Le test Western blot de confirmation sur un fragment contigu ne permet

pas d'exclure la présence de PrPres et l'examen par immunohistochimie du fragment de tissu cérébral fixé par le LVD (correspondant à l'obex) est positif.

Un second cas a été détecté comme positif en Prionics au niveau du LVD. Ce prélèvement n'a jamais été retrouvé positif, quelle que soit la technique utilisée (Prionics, Biorad, Western-blot et immunohistochimie) au laboratoire de référence.

III. Comparaisons avec les résultats des programmes de tests menés dans les autres pays

Seule la Suisse a publié des données concernant les résultats d'un programme d'épidémiosurveillance active. Le Royaume-Uni, pour sa part, a communiqué des résultats partiels des tests réalisés sur des échantillons de cerveaux de bovins.

A. La Suisse

Le programme d'épidémiosurveillance passif suisse, basé sur le dépistage et la déclaration obligatoire des cas cliniques, a débuté le 1^{er} décembre 1990.

Année	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Nombre de cas cliniques	1	9	15	29	63	68	45	38	14	25	17

Tableau 5 : Résultats, par année de déclaration, du programme d'épidémiosurveillance passif Suisse, source site internet Bvet actualisés au 24 novembre 2000

La Suisse est actuellement le seul autre pays à avoir mis en place un programme d'épidémiosurveillance active, dont la méthodologie est comparable à celle utilisée en France. Son cheptel de bovins compte environ 1,7 millions de têtes. Certaines différences sont cependant à souligner, qui peuvent rendre les comparaisons de résultats entre les deux pays délicates. En effet, la population analysée lors de l'étude d'épidémiosurveillance active suisse diffère légèrement de la population analysée en France. Elle concerne l'ensemble du territoire suisse, l'unique site d'équarrissage et les douze abattoirs pratiquant des abattages d'urgence étant mis à contribution. Les modalités d'extension du protocole aux animaux abattus normalement ont cherché à reproduire cette extension à l'ensemble du territoire, en établissant des quotas de prélèvements par canton, à partir de données sur le nombre d'abattages annuels par canton.

Les animaux éligibles sont les bovins de plus de deux ans (ou à défaut, ayant quatre dents permanentes), appartenant aux catégories définies ci-dessous :

- A partir du 1^{er} janvier 1999, l'étude inclut les animaux dits « péris », pour cause de maladie ou d'accident, prélevés à l'équarrissage. Cette catégorie regroupe les deux catégories retenues lors de l'étude française : animaux trouvés morts et euthanasiés.
- A partir du 1^{er} mars 1999, l'étude inclut les animaux abattus d'urgence à l'abattoir (12 abattoirs), pour cause de maladie, suspicion de maladie (examen ante-mortem) ou accident dans les dix jours précédent l'abattage. En France, les abattages d'urgence sont limités, selon la nouvelle réglementation en vigueur*, aux animaux accidentés** depuis moins de quarante huit heures. Les animaux déclarés malades lors de l'examen ante-mortem sont euthanasiés et assimilés à des animaux malades***. Ils entrent donc dans la catégorie des animaux euthanasiés dans le cadre du programme de tests.
- A partir du 1^{er} mars 1999, l'étude suisse inclut également un échantillon de bovins de plus de 2 ans présentés à l'abattoir pour un abattage normal, proportionnellement au nombre d'abattages annuels effectués par canton, afin de dissuader un échappement d'animaux suspects vers la chaîne d'abattage normal.

Les différences notables entre les programmes français et suisses sont :

- le regroupement différent des catégories morts et euthanasiés,
- la définition beaucoup plus restrictive et récente de l'abattage d'urgence en France
- l'existence d'un dépistage aléatoire en abattoir sur les chaînes d'abattage normales et
- le petit nombre de structures impliquées dans l'étude en Suisse (un site d'équarrissage et douze abattoirs), sans doute plus faciles à contrôler (exhaustivité, examen ante-mortem ...).

*« *il est interdit de présenter à l'abattoir et de préparer pour la boucherie des animaux malades, en état de mort apparente, morts de maladie ou d'accident ou en état de misère physiologique. En outre, il est interdit de présenter à l'abattoir des animaux accidentés depuis plus de quarante-huit heures.* » Arrêté du 9 juin 2000 relatif à l'abattage des animaux de boucherie accidentés, Journal officiel de la République Française, 15 juin 2000.

** « *animal accidenté : tout animal qui présente des signes cliniques provoqués brusquement par un traumatisme ou une défaillance de l'organisme lors d'une intervention chirurgicale ou obstétricale, alors qu'il était en bon état de santé avant le traumatisme ou l'intervention.* » Arrêté du 9 juin 2000 relatif à l'abattage des animaux de boucherie accidentés, Journal officiel de la République Française, 15 juin 2000.

*** « *Tout animal de boucherie qui, à la suite d'une inspection ante-mortem effectuée conformément au chapitre II du titre III du présent arrêté, est déclaré malade au sens de l'arrêté du 9 juin 2000 précité, est euthanasié sur place et son cadavre est détruit dans les conditions fixées à l'article 265 du code rural.* » Arrêté du 9 juin modifiant l'Arrêté du 17 mars 1992 relatif aux conditions auxquelles doivent satisfaire les abattoirs d'animaux de boucherie pour la production et la mise sur le marché de viandes fraîches et déterminant les conditions de l'inspection sanitaire de ces établissements, Journal officiel de la République Française, 15 juin 2000.

	Année 1999	Prévalence 1999 par sous-catégorie	Année 2000	Prévalence 2000 par sous-catégorie
Animaux morts	16/7116	2,24‰	7/6745	1,04‰
Abattage d'urgence	6/3578	1,67‰	8/4628	1,73‰
Sondage à l'abattoir	3/7138	0,42‰	0/7505	0‰
total	25 cas		15 cas	

Tableau 6 : Résultats du programme d'épidémirosurveillance actif suisse (données site Internet BVET au 24/11/00)

En regroupant les catégories « animaux morts » et « euthanasiés », afin de se rapprocher au mieux des catégories définies en Suisse, l'estimation de la prévalence est de 2,1‰, ce qui est très proche de ce qui est noté en Suisse en 1999 lors de la première campagne de dépistage actif.

Les résultats concernant l'abattage d'urgence sont plus difficilement comparables, car cette catégorie concerne des catégories d'animaux différents dans les deux pays, depuis la mise en application de l'arrêté du 9 juin 2000, qui restreint l'abattage d'urgence en France aux animaux accidentés depuis moins de quarante-huit heures.

On pourrait cependant s'attendre à ce que le taux de prévalence chez les animaux abattus d'urgence soit plus faible en France qu'en Suisse, selon la définition française car elle exclut les animaux malades (ayant un problème de santé préexistant au traumatisme ou à l'intervention) alors que la définition suisse inclut les animaux dépistés lors de l'examen ante-mortem à l'abattoir car malades ou suspects.

Les données observées ne vont pas dans ce sens, puisque l'estimation de la prévalence au sein de cette catégorie est plus élevée en France qu'en Suisse.

Il est possible que la prévalence estimée en France dans la catégorie « abattage d'urgence » ait été surestimée par la classification dans cette catégorie d'animaux relevant plutôt de la catégorie « euthanasie ». En effet, trois des cinq cas inclus dans le cadre de l'abattage d'urgence ne font référence ni à un traumatisme, ni à une intervention (« fourbure chronique, puis paraplégie suite chevauchement », « couchée stabulation », « paraplégie »), mais ce point est à confirmer en fonction des données recueillies ultérieurement lors de l'enquête rétrospective.

B. Le Royaume –Uni

Epidemiosurveillance passive

Depuis le premier cas de BSE reporté au Royaume Uni en 1986, le nombre de cas cliniques n'a cessé d'augmenter jusqu'en 1992. Les données reportées ci dessous concernent les cas enregistrés chez les bovins à partir du 14 juin 1988, date d'entrée en vigueur de la déclaration obligatoire de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Grande Bretagne (the Bovine Encephalopathy order 1988, SI 1988 N°1039)

Année de suspicion clinique	Nombre de cas confirmés
1988	2180
1989	7133
1990	14181
1991	25026
1992	36680
1993	34370
1994	23943
1995	14301
1996	8013
1997	4309
1998	3178
1999	2254
2000 (données partielles)	1150

Tableau 7 : Epidémirosurveillance passive en Grande Bretagne, données au 24 novembre 2000. Données site internet du MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food)

Programmes de tests

Au Royaume-Uni, les seuls résultats disponibles concernent des tests réalisés en 1999 dans le cadre du programme OTMS (Over Thirty Months Survey) mis en place depuis 1996. Ce programme prévoit le retrait de la consommation des viandes issues d'animaux âgés de plus de 30 mois. Dans le cadre de ce programme, 3950 cerveaux de bovins de plus de 5 ans ont été analysés en 1999 : 18 ont présentés des signes histologiques évocateurs d'ESB (MAFF, juillet 1999), ce qui correspond à une prévalence de 4,5 pour mille.

Les études sont résumées dans le tableau suivant (d'après le MAFF).

Année	Références des tests utilisés	Nombre de bovins testés	Type de bovins concernés	Date début	Exigence CE (2000/347)
1999	Histopathologie Prionics	4000	OTMS	1999	Initiative nationale
2000	Histopathologie Prionics	10 000	OTMS	2000	Initiative nationale
2001	Un des tests rapides validés	1) 7000 2) 7000	Bovins abattus d'urgence Bovins nés après le 1/8/1996	Début 2001 Août 2001	CEE Initiative nationale

Tableau 8 : Etudes en cours en Grande Bretagne

IV. Enseignements à tirer de cette analyse intermédiaire

En termes de stratégie d'utilisation de tests rapides

Il n'existe actuellement aucune donnée expérimentale publiée concernant la capacité des tests rapides à obtenir un diagnostic pré-clinique de la maladie.

Les seules données disponibles concernent l'utilisation d'une méthode d'immunohistochimie, qui a permis de détecter la protéine prion anormale dans le système nerveux central 32 mois après une infection expérimentale de bovins par voie orale, en même temps que de premières lésions histologiques, alors que dans cette expérience la maladie clinique apparaissait chez certains animaux à partir de 36 mois après l'infection expérimentale. Concernant les tests rapides, de telles données ne sont pas encore disponibles, et les résultats de l'utilisation du test Prionics dans les campagnes de dépistage du même type en Suisse ne permettent pas d'éarter définitivement l'absence totale de signes cliniques chez les animaux trouvés positifs. Ces données sont en cours d'examen à partir des cas qui ont été dépistés dans le cadre de cette étude en France.

Dans les conditions naturelles, la maladie est rencontrée le plus souvent chez des animaux âgés de plus de 4 ans, et les données expérimentales permettent ainsi de considérer que, à ce stade des connaissances sur les tests rapides, les animaux infectés ne peuvent être détectés, avec une probabilité suffisante, que dans une assez courte période précédant l'apparition des signes cliniques.

Il est notable que dans l'étude réalisée, tous les animaux détectés par le test Prionics ont été détectés par les méthodes de confirmation. En d'autres termes l'étude n'a pas fait apparaître jusqu'ici d'animaux présentant des taux de protéine prion anormale détectables par le test Prionics qui n'auraient pas été détectés par les autres tests utilisés. Ainsi, l'avantage essentiel de ce test par rapport à ces autres tests de confirmation paraît être essentiellement représenté par la possibilité de le mettre en œuvre sur des séries d'échantillons plus nombreux.

Les stratégies d'utilisation des tests rapides peuvent par ailleurs prendre en compte les données obtenues au travers des programmes de dépistage en cours, identifiant en particulier que dans la population bovine des régions étudiées, une prévalence élevée a été observée chez les animaux nés entre 1993 et 1995, tout en sachant que les données de l'étude ne permettent pas pour l'instant de tirer de conclusions sur les taux de prévalence pour les animaux nés en 1996 et après du fait du délai d'accumulation de la protéine prion pathologique dans le cerveau.

En termes de répartition des cas positifs

- Cinq animaux ont été déclarés positifs parmi les 1700 animaux abattus d'urgence pendant la durée de l'étude. Il apparaît que le taux de prévalence est significativement plus élevé dans cette catégorie d'animaux abattus d'urgence que chez ceux morts à la ferme.
- Les résultats de l'enquête chez les animaux reconnus positifs pourraient permettre de mettre en évidence que des signes cliniques existaient avant l'abattage d'urgence. Par ailleurs, la définition des catégories d'animaux ayant été modifiée récemment, il est possible que le caractère récent de cette réglementation pose des problèmes d'interprétation et d'application.
- En tout état de cause, la présence de cas parmi les animaux qui peuvent entrer dans la chaîne alimentaire a conduit l'Afssa à indiquer qu'il fallait d'ores et déjà en tenir compte pour la sécurité du consommateur.
- Parmi les principaux enseignements tirés de ce programme pilote sur les tests ESB mené en France d'août à octobre 2000, les animaux qui présentent de la protéine prion pathologique en quantité détectable dans leur système nerveux central sont particulièrement représentés dans la classe des animaux de plus de 48 mois.

C'est donc dans ces catégories (abattus d'urgence et animaux âgés de plus de 48 mois) que se trouvent les animaux les plus susceptibles de présenter un danger pour la consommation humaine.

En termes de recherche fondamentale

Une banque de prélèvements a été constituée pour le stockage des échantillons du programme pilote. Ces échantillons pourront ainsi faire l'objet d'analyses ultérieures. Les échantillons collectés correspondent cependant à la partie du prélèvement qui n'a pas fait l'objet d'analyses, c'est-à-dire, que, dans la mesure où la conservation de l'échantillon permettait d'analyser en première intention les régions cérébrales potentiellement les plus riches en protéine prion anormale, il ne s'agit plus, par définition, de prélèvements optimaux pour ces tests.

D'autres études sont prévues afin d'étudier d'autres tests. Le protocole de ces études doit ainsi permettre d'utiliser chacun de ces tests dans des conditions optimales, permettant de détecter le plus grand nombre de cas positifs possibles pour chacune de ces techniques. Ils devraient être utilisés de façon prospective, et l'expérience acquise avec le test Prionics peut servir de comparaison.

De telles études viseront non seulement à mettre en évidence une éventuelle différence de sensibilité de nouveaux tests, mais devront également évaluer la spécificité de ces tests, soit par comparaison à des techniques de Western blot, soit par des épreuves de transmission de la maladie à l'animal permettant de rechercher la présence de l'agent infectieux dans les échantillons.

En terme de recherche, les connaissances générales sur la pathogénie de ces maladies et les données disponibles spécifiques à la maladie bovine montrent que le tissu nerveux ne constitue certainement pas un matériel de choix pour un diagnostic précoce, à la fois compte tenu du caractère tardif de la neuro-invasion et également du fait de la relative difficulté du

prélèvement. Il n'existe malheureusement pas de tissus ou d'organes périphériques aisés à prélever, si possible du vivant de l'animal, et dans lesquels un marqueur de l'agent infectieux ait été identifié, en tous cas dans la maladie naturelle. Une perspective possible pourrait éventuellement néanmoins être envisagée du fait de la mise en évidence de l'infectiosité, précocement au cours de l'incubation, dans l'iléon de bovins expérimentalement infectés avec des doses massives d'agent infectieux.

En termes de surveillance épidémiologique de la maladie

La confirmation d'un nombre significatif de bovins atteints d'ESB chez des animaux n'ayant pas fait l'objet de suspicions cliniques conduit à s'interroger sur le cadre même de ces suspicions dans le contexte d'une surveillance passive de ces maladies. Les études ultérieures concernant les enquêtes rétrospectives sur la clinique de ces cas seront de nature à préciser les cadres dans lesquels une suspicion d'ESB peut être portée. Quoi qu'il en soit, ces premiers résultats, à l'image de l'expérience suisse, suggèrent que l'épidémirosurveillance passive est globalement insuffisante pour donner une représentation précise de la prévalence de la maladie.

SUITES DE L'ETUDE

Les résultats de l'analyse intermédiaire des 15000 premiers prélèvements du programme pilote permettent de déterminer une prévalence globale de 2,1 pour mille avec une précision suffisante permettant de répondre à l'objectif principal initialement fixé par le protocole. Cependant, il convient de poursuivre ce programme pilote jusqu'à concurrence des 40000 prélèvements prévus avec deux objectifs :

- préciser les prévalences par sous-groupes (classes d'âge, régions, catégories de morts etc.) de façon à affiner les enseignements pratiques qui pourraient être tirés de ce programme, tant du point de vue scientifique que sanitaire;
- mettre en évidence d'éventuelles discordances entre les tests Prionics et Biorad. D'ores et déjà, la procédure prévoyant la découpe en deux parties égales de l'obex, l'une destinée au test Prionics, l'autre au test Biorad, est effective.

Des études complémentaires au programme pilote sont en place ou sont sur le point de débuter. Il s'agit principalement de l'extension du programme pilote au territoire national, du dépistage aléatoire et de la recherche du statut ESB des animaux des troupeaux dont sont issus les cas.