

Direction de l'évaluation des risques

Comité d'experts spécialisé « Santé et bien-être des animaux »

Procès-verbal de la réunion du 08 octobre 2019

Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.

Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).

Etaient présent(e)s :

- Membres

Mmes C. BELLOC, M.H. FILIPPITZI, E. GILOT-FROMONT, N. HADDAD (au téléphone, pour la saisine 2017-SA-0121), V. HENNAUX (au téléphone), S. LE BOUQUIN-LENEVEU, S. LE PODER, M. L'HOSTIS, V. MICHEL, E. MONCHATRE-LEROY, A. PAYNE (le matin), C. PEROZ, C. PONSART, G. SIMON

MM. S. BERTAGNOLI, A. BOISSY, H. J. BOULOUIS, E. COLLIN, J.C. DESFONTIS, D. FRETIN, E. GIRAUD, L. GRISOT, F. MEURENS, P. MORMEDE, M. G. MEYER, M. PEPIN C. SAEGERMAN, J.P. VAILLANCOURT

Invités

MME S. BOULLIER (pour la saisine 2017-SA-0121, par téléphone)

- Coordination scientifique de l'Anses

Etaient excusé(e)s, parmi les membres du collectif d'experts :

Mmes E. JOURDAIN, C. PARAUD, A. PAYNE (l'après-midi)
Mr. H. MORVAN

Présidence

M. G. MEYER



1. ORDRE DU JOUR

L'expertise ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions est relative au traitement de la saisine 2017-SA-0121 (Saisine relative au recours au test de dosage de l'interféron gamma pour gérer des suspicions de tuberculose bovine faisant suite à des dépistages en élevage par intradermo tuberculination).

2. GESTION DES RISQUES DE CONFLITS D'INTERETS

Le président du CES SABA rappelle la définition d'un conflit d'intérêts (CI). Il n'y a pas eu de liens d'intérêt identifiés comme pouvant présenter un risque de conflit d'intérêt pour les personnes présentes pour le traitement de la saisine 2017-SA-0121.

Le président interroge les membres du CES sur d'éventuels nouveaux liens d'intérêts à déclarer et les membres du CES SABA confirment l'absence d'autres liens à déclarer au regard des sujets inscrits à l'ordre du jour.

3. SYNTHESE DES DEBATS, DETAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

Le président vérifie que le quorum est atteint avec 28 membres du CES SABA présents le matin et 27 l'après-midi, sur les 31 membres du Comité d'experts spécialisé « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA) ne présentant pas de risque de conflit d'intérêt pour le dossier étudié 2017-SA-0121.

Contexte et questions posées

La France est reconnue officiellement indemne de tuberculose bovine par l'Union Européenne depuis décembre 2000 (décision CE/2001/26), c'est-à-dire que la proportion de troupeaux qualifiés « officiellement indemnes » en France est supérieure à 99,9 % au 31 décembre de chaque année depuis au moins six ans, et la proportion de troupeaux infectés annuellement est inférieure à 0,1 %.

La surveillance de la tuberculose bovine en France repose, d'une part, sur le dépistage des animaux vivants en élevage et, d'autre part, sur la recherche de lésions à l'abattoir.

Le dépistage en élevage correspond à une prophylaxie obligatoire pour les animaux de plus de six semaines avec des allègements dans les départements dont le niveau de prévalence annuel se situe en deçà d'un certain seuil. Ce dépistage mené sur le terrain est effectué par intradermo-tuberculination (IDT) qui peut être simple (IDS) ou comparative (IDC)¹.

Dans le cadre de la qualification des troupeaux bovins, une démarche de gestion des suspicions a été construite en se basant sur les principes de la réglementation européenne (Directive 64/432). Elle consiste à différencier les situations où des résultats positifs sont obtenus en IDC, qui entraînent une déclaration de suspicion forte, et où des résultats douteux en IDC ou non négatifs en IDS, qui entraînent une déclaration de suspicion faible.

« Dans le cas des suspicions fortes, les animaux réagissants doivent faire l'objet d'un abattage diagnostique et si la maladie n'est pas confirmée à ce stade le troupeau doit fournir un résultat de dépistage favorable à une IDT réalisée 6 semaines plus tard avant de voir réattribuer sa qualification. »

¹ Les préconisations actuelles en France vont dans le sens de l'utilisation de l'IDC en première intention, particulièrement dans les zones où la surveillance est renforcée.



Dans le cas des suspicions faibles, il existe deux voies d'investigation : en cas de recours à la voie rapide, les animaux réagissants font l'objet d'un abattage diagnostique et si les résultats sont favorables, la suspension de qualification est levée. En cas de recours à la voie « conservatoire », les animaux réagissants sont dépistés à nouveau selon le protocole de la directive 64/432, 6 semaines plus tard par IDC et si les résultats sont négatifs, la suspension de qualification est levée, sinon le troupeau est placé en suspicion forte. »

Cependant, il a été noté que « lorsque les vétérinaires et les éleveurs réalisent dans des conditions satisfaisantes les dépistages », des résultats ne permettant pas d'aboutir à une décision sont observés régulièrement. La principale conséquence de ces suspensions de qualification prolongées, sans que la maladie ne soit confirmée, est principalement une décrédibilisation de l'IDT auprès des vétérinaires et éleveurs.

Pour améliorer cette situation, des protocoles reposant sur le recours au dosage de l'interféron gamma ont été développés et ont fait l'objet d'évaluations auprès de l'Anses (avis 2012-SA-0011) et de l'Efsa (EFSA journal 2012 ; 10 (12) : 2975). Par ailleurs, pour évaluer la pertinence d'un schéma d'investigation plus rapide, une expérimentation a été proposée par la DGAL à la Commission européenne, afin de remplacer le recontrôle par IDC à 6 semaines par un test « interféron gamma » suite à la lecture d'une IDT non négative, entre J3 et J8 après cette 1^{ère} IDT. Cette expérimentation s'est basée sur les résultats de deux campagnes de dépistage (2013-2014 et 2014-2015) et une partie des données a fait l'objet d'un article publié en 2016². Cette étude a montré que la sensibilité du test « interféron gamma » suite à la lecture serait significativement plus élevée que la sensibilité de l'IDC réalisée 6 semaines plus tard.

« Pour en permettre la généralisation, il convient d'évaluer le risque lié à un tel protocole alternatif et de partager cette évaluation au plan européen, sous réserve qu'elle soit favorable, en vue de son intégration dans les standards de qualification ».

Dans ce contexte, les questions, telles que posées à l'Anses dans la saisine, sont les suivantes :

- « Outre la valorisation par l'article publié qui répond à l'objectif principal du protocole, d'autres exploitations des données sont-elles envisageables pour étudier l'effet de défaut de sensibilité de l'interféron gamma réalisé le jour de la lecture par rapport à celui réalisé 6 semaines plus tard ?

- Pouvez-vous comparer le risque de lever à tort la suspension de qualification suite d'une part à un résultat interféron gamma négatif suite à la lecture du dépistage initial et suite d'autre part à un contrôle IDC négatif réalisé 6 semaines plus tard ? Pouvez-vous décliner la réponse en fonction du type d'antigènes utilisés et des règles d'interprétation des résultats, en particulier si seuls les antigènes spécifiques sont utilisés ? Est-ce que cette évaluation dépend du type d'IDT réalisée en première intention ?

- Pouvez-vous évaluer la pertinence du recours à l'IDS comme test de dépistage IDT en première intention dans le contexte épidémiologique actuel ? Est-ce que la perspective de pouvoir investiguer les résultats non conclusifs par un test interféron gamma modifie-t-elle cette évaluation ? »

Après échange avec la DGAL, les questions de la saisine ont été reformulées de la manière suivante :

Question 1 : Suite à un résultat non négatif en IDT à J3, quel est le risque de perte de sensibilité de substituer l'IDC réalisée à J42, par un test IFNy à J3, cette éventualité ayant notamment comme prérequis l'évaluation de la sensibilité du test IFNy à l'échelle individuelle et collective ?

Question 2 : i) Pouvez-vous comparer le risque de lever à tort la suspension de qualification suite d'une part à un résultat interféron gamma négatif suite à la lecture du dépistage initial et suite d'autre part à un contrôle IDC négatif réalisé six semaines plus tard ? ii) A partir de données de

² Praud, A., C. Boireau et B. Dufour. 2016. "Sensitivity of gamma-interferon test used in series after tuberculin test to detect bovine tuberculosis." Vet Rec 179 (7):174. doi: 10.1136/vr.103803



comparaison des tests IFNy réalisés sur les mêmes échantillons avec des antigènes différents et de la comparaison avec des résultats bactériologiques, quels critères d'interprétation et quels antigènes seraient à adopter en fonction du contexte, selon s'il s'agit d'un dépistage (suspicion faible ou forte) ou d'un assainissement par abattage partiel afin de viser une sensibilité maximale ?

iii) Est-ce que cette évaluation dépend du type d'IDT réalisée en première intention ?

Concernant la question 3, il a été convenu avec la DGAL qu'elle ne sera pas traitée par les experts, étant donné que le gestionnaire dispose actuellement d'éléments techniques pour prendre une décision.

Organisation de l'expertise

Au cours de cette expertise, plusieurs auditions ont été menées afin d'acquérir plus de connaissances sur la mise en place du protocole expérimental. Lors de la première réunion, les experts ont eu un échange téléphonique avec la DGAL, qui a présenté le contexte de la gestion de la tuberculose et les retours terrains des pratiques de l'IDT. Les questions de la saisine ont été également discutées et reformulées. De plus, le LNR « Tuberculose bovine » du laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort a été auditionné, notamment en ce qui concerne les types d'antigènes utilisés³ ainsi que les critères d'interprétation des tests de dosage de l'IFNy et leur évolution. Le Référent national tuberculose bovine a été auditionné à la réunion du mois de novembre 2018 et a répondu aux questionnements des experts concernant la différence actuelle d'évolution de la situation de la tuberculose bovine en Dordogne et Côte-D'Or, et a fait part de son retour d'expérience concernant la mise en place du protocole expérimental.

Le GT a pu avoir accès à la base de données Excel qui a été utilisée pour la rédaction de l'article de Praud *et al.* (2016) et qui regroupe les résultats IDT J₀, IDT J₄₂, IFNy J₃, IFNy J₄₂, PCR et culture pour les campagnes de prophylaxie 2013-2014 et 2014-2015.

Des points d'avancement des travaux du GT ont été faits aux CES du 11 décembre 2018, 16 avril et 03 juillet 2019. Le rapport a été présenté une première fois lors du CES du 17 septembre et validé le 08 Octobre 2019

Discussions (synthèse des échanges en réunion des 11 décembre 2018, 16 avril, 03 juillet, 17 septembre et 08 octobre 2019)

Concernant la base de données transmise

- La base de données transmise au GT est une combinaison d'extractions de la base SIGAL et de données issues des DDcsPP ou des laboratoires départementaux, d'où la difficulté d'avoir des données consolidées et bien renseignées. A noter aussi que cette base de données sera exploitée pour la saisine 2018-SA-0186 relative au dispositif de surveillance de la tuberculose bovine ;
- Il est demandé si le passage de l'IDS à l'IDC a changé la perspective de la réflexion du GT : la plupart des tests appliqués au cours des campagnes de prophylaxie 2013-2014 et 2014-2015 étaient des IDS, ce qui pousse le GT à s'interroger sur la qualité des données renseignées dans la base. D'ailleurs, le passage de l'IDS à l'IDC a permis une acceptabilité plus grande de ce test de la part des éleveurs et des pratiques plus correctes des vétérinaires sanitaires ;
- Les animaux inclus dans le protocole l'ont été sur la base d'une réponse non négative à l'IDT à J₀. Les animaux ayant fourni un résultat négatif à J₀ et qui auraient fourni un résultat positif (voire non conclusif) au test IFNy à J₃, ne sont donc pas renseignés dans la base de données. Il en résulte que la sensibilité individuelle et la sensibilité troupeau du test IFNy pourraient être sous-estimées dans le cadre du protocole. Inversement, un effet de surestimation pourrait être à l'œuvre, dans la mesure où la base de données ne donne pas accès aux bovins ayant fourni une réponse initiale négative en IDT et qui auraient fourni une réponse également négative au test IFNy à J₃ ;

³ Cocktail peptidique (PPD) et antigènes recombinants ESAT-6/CFP-10



Concernant la sensibilité et la spécificité des tests

- A l'heure actuelle, les études bibliographiques tendent à conclure à une perte de sensibilité du dépistage si le test l'IFNy est utilisé en première intention. Selon un expert, en Belgique, en raison d'une augmentation du taux de résultats faux-positifs à l'IDT, les autorités prévoient l'utilisation de l'IFNy en première intention. Dans le cas où le résultat du dosage de l'IFNy serait négatif, une IDT serait alors pratiquée, l'objectif étant de qualifier les animaux avec un test officiel de l'Union Européenne ;
- Il n'a pas été possible de trouver dans la littérature des données concernant la sensibilité de l'IDS réalisée au niveau de l'encolure, à partir d'infections expérimentales, la majorité des tests étant réalisés au pli sous-caudal. De plus du fait des doses élevées utilisées pour l'infection expérimentale, ces données ne sont pas extrapolables aux conditions d'utilisation de l'IDS sur le terrain ;
- Un expert du CES indique que les vétérinaires praticiens en Côte-d'Or ne sont pas convaincus de la fiabilité du résultat de l'IDC à J42 étant donné que beaucoup d'élevages qui ont donné des résultats négatifs avec ce test à J42 se sont avérés infectés par la suite. Par ailleurs, des phénomènes de résurgence de la tuberculose ont été observés dans des troupeaux ayant subi un abattage partiel ;
- Il existe un vrai problème au niveau de la standardisation du geste du vétérinaire au moment de la tuberculination. Le non-respect des bonnes pratiques de réalisation des IDT est une cause importante d'erreur d'interprétation des résultats. Si dans certaines régions, des améliorations au niveau des pratiques ont été observées, ce n'est pas le cas pour la Nouvelle-Aquitaine.

Concernant le test IFNy

- Etant donné que les témoins positifs (TP) du kit sont très fortement concentrés dans les kits IFNy, une dilution du TP d'un facteur 3 a été mise en place par le LNR, afin de disposer d'un TP avec une densité optique (DO) proche de 1, se situant donc dans la zone de linéarité des DO dans le test ELISA. Ce TP est utilisé afin de s'assurer qu'il n'y a pas eu de problèmes techniques lors de la réalisation du test. Cependant, étant donné que les autres Etats-Membres (EM) n'utilisent pas ce facteur 3, cela pourrait biaiser le résultat et avoir un impact sur le seuil de sensibilité du test.
- En Europe, il n'existe pas de règle standard quant aux formules d'interprétation du test IFNy. La dilution du TP et les seuils de positivité fixés vont dépendre de chaque pays, en fonction de la stratégie de détection mise en œuvre ;
- Concernant les antigènes spécifiques ESAT6 et CFP10, il serait intéressant de vérifier si des contrôles qualité sont réalisés sur chaque lot. D'ailleurs, il ressort des données bibliographiques que dans certains kits, la composition du mélange d'antigènes n'est pas précisée ;
- Compte tenu du nombre important des résultats non conclusifs observés pour le test IFNy, il est nécessaire de statuer sur le devenir de cette catégorie d'animaux. Pour cela les experts recommandent d'adapter le mode d'interprétation des résultats du test IFNy en fonction du contexte épidémiologique, comme préconisé par les travaux de Faye et al. 2011. Ainsi, en contexte défavorable (élevages situés en zone à risque, ou dans une zone présentant une augmentation significative de l'incidence ou pour les élevages présentant d'autres facteurs de risque, par exemple élevages en lien épidémiologique avec un foyer ...), la positivité d'une seule des deux stimulations (soit PPD, soit MIX-EC) devrait être prise en compte pour considérer un résultat comme positif. Dans les autres situations, en « contexte favorable », c'est la positivité des deux stimulations (PPD et MIX-EC) qui serait requise pour considérer un test comme positif. La formulation est faite en séance.

Concernant les incertitudes identifiées

- Il faudrait préciser dans le rapport les incertitudes concernant la qualité des échantillons sur lesquels les tests ont été réalisés. En effet, concernant la spécificité, les experts du GT ont considéré qu'ils pouvaient inclure dans la catégorie des élevages indemnes ceux pour lesquels aucun animal de la base de données n'avait été détecté infecté pour la période 2013 et 2015, et ce



jusqu'en 2018. Quant à la sensibilité, les animaux infectés ont été sélectionné sur la base du « *gold standard* » c'est -à - dire un résultat positif en culture et / ou en PCR ;

- Concernant le tableau des incertitudes et pour la partie « méthode de collecte des données », il est rappelé que la définition des animaux infectés correspond aux animaux qui ont donné un résultat positif en PCR et/ou culture. Cependant, il existe une incertitude sur les animaux qui sont réellement infectés mais qui n'ont pas été détectés comme tel, ce qui pose problème pour la définition des animaux indemnes. En effet, pour les animaux réagissants et abattus d'un cheptel confirmé infecté, la valeur prédictive positive étant très forte, les animaux sont considérés comme infectés et ne sont pas systématiquement testés pour confirmation en PCR et/ou culture. Une proposition de formulation est faite en séance.

Le président du CES propose une étape formelle de validation avec vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente.

Les experts valident à l'unanimité des présents les conclusions de l'expertise relative au traitement de la saisine 2017-SA-0121 relative au recours au test de dosage de l'interféron gamma pour gérer des suspicions de tuberculose bovine faisant suite à des dépistages en élevage par intradermo tuberculination.