



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 9043

**To cite this version :**

Larreché, Stéphane. *Analyse des mesures de protection du consommateur français de viande ovine adoptées par la France vis-à-vis de la tremblante classique et complémentaires aux mesures prévues par l'Union européenne*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2013, 109 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

ANNEE 2013 THESE : 2013 – TOU 3 – 4016

---

# **ANALYSE DES MESURES DE PROTECTION DU CONSOMMATEUR FRANÇAIS DE VIANDE OVINE ADOPTÉES PAR LA FRANCE VIS-A-VIS DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE ET COMPLÉMENTAIRES AUX MESURES PRÉVUES PAR L'UNION EUROPÉENNE**

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**LARRECHE Stéphane**  
Né, le 2 mai 1973 à GRADIGNAN (33)

---

**Directeur de thèse : M. Hubert BRUGERE**

---

## **JURY**

PRESIDENT :  
**M. Thierry LANG**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :  
**M. Hubert BRUGERE**  
**M. Fabien CORBIERE**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : M. A. MILON

**Directeurs honoraires** : M. G. VAN HAVERBEKE.  
M. P. DESNOYERS

**Professeurs honoraires** :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	M. BRAUN (émérite)
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	M. TOUTAIN (émérite)
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*  
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*  
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*  
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*  
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*  
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1<sup>o</sup> CLASSE**

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2<sup>o</sup> CLASSE**

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*  
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*  
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

#### **PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

#### **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

#### **MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*  
Mme **TROGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

#### **MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*  
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

#### **ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*  
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

*A mon président de thèse,*

**Monsieur le Professeur Thierry LANG,**  
Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse,  
*Epidémiologie – Biostatistiques – Recherche clinique.*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.  
Hommage respectueux.

*A mon jury de thèse,*

**Monsieur le Docteur Hubert BRUGERE,**  
Maître de conférences à l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse,  
*Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale.*

Pour m'avoir fait l'honneur de sa participation à mon jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect pour le soutien tout au long de mes études.  
Sincères remerciements.

**Monsieur le Docteur Fabien CORBIERE,**  
Maître de conférences à l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse,  
*Pathologie des ruminants.*

Qui a accepté de participer à mon jury de thèse et a été d'un soutien scientifique précieux dans la réalisation de ce travail.  
Sincères remerciements.

*A mes collègues de l'Anses,*

Je tiens à adresser mes chaleureux remerciements au docteur Moez Sanaa pour sa patience, son écoute et son encadrement tout au long de ce projet.

Je tiens à remercier Franck Foures, Jean-Charles Leblanc et Sonia Tenailleau de m'avoir offert l'opportunité de réaliser cette thèse.

Un grand merci à mes collègues de l'unité d'évaluation des risques biologiques dans les aliments de l'Anses pour l'engagement et l'enthousiasme dont ils font preuve au quotidien.

Je tiens à remercier Thomas, coordinateur scientifique et les membres du groupe de travail EST de l'Anses, qui, grâce à leurs connaissances sur le sujet, m'ont été d'une aide précieuse pour conduire ce projet.

*A ma famille,*

Un grand merci pour avoir cru en moi, m'avoir encouragé, et, sans qui, mon projet de reprise d'études n'aurait jamais abouti. Une dédicace spéciale à ma filleule, Mélina, qui arrivera, sans aucun doute, à réaliser ses rêves les plus beaux.

*A mes amis de Bordeaux,*

Mes choix vous ont parfois surpris mais votre amitié et votre confiance n'ont jamais failli.

*A mes amis de Toulouse,*

Votre bonne humeur et grand humour m'ont permis de relativiser dans les moments les plus durs.

*A Cécile, et les compagnons de l'ENVT,*

Qui m'ont accompagné durant ma scolarité et sans qui je me serais senti bien seul.

*A Yann,*

Pour son infallible soutien. Merci d'être à mes côtés.

## TABLE DES MATIÈRES:

Analyse des mesures de protection du consommateur français de viande ovine adoptées par la France vis-à-vis de la tremblante classique et complémentaires aux mesures prévues par l'Union européenne.

TABLE DES MATIÈRES:.....	3
LISTE DES ABREVIATIONS.....	6
LISTE DES TABLEAUX.....	8
INTRODUCTION.....	10
PARTIE 1: MALADIES A PRION : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	14
I. Les maladies à prion.....	14
A. Des maladies affectant l'homme et les animaux.....	14
B. Le prion : un agent transmissible non conventionnel.....	17
C. Cas des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ovines.....	21
D. Principales méthodes de diagnostic des EST ovines.....	26
II. Mesures de gestion des EST ovines.....	27
A. Dépistage des EST chez les petits ruminants.....	27
B. Les mesures prophylactiques.....	30
C. Mesures de police sanitaire.....	32
III. Approches de modélisations mathématiques des EST ovines.....	33
PARTIE 2: REVUE DES DONNÉES DISPONIBLES SUR L'INFECTIOSITÉ DES OVINS A LA TREMBLANTE CLASSIQUE.....	38
I. Approche qualitative.....	38
A. Origine de la contamination.....	38
B. Présence de la PrPres et infectiosité à la tremblante classique.....	39
C. Dynamique de la tremblante classique : les études sur la pathogénèse....	40
II. Charge infectieuse dans les tissus des ovins.....	45

A.	Quantification de la charge infectieuse par bio-essai .....	46
B.	Informations issues de méthodes alternatives.....	50
C.	Intégration des données et évolution de la charge infectieuse avec l'âge ...	51
III.	Conclusions sur l'infectiosité des tissus et hypothèses considérées. ....	56
A.	Option maximale (Figure 5).....	56
B.	Option minimale : test de sensibilité du modèle .....	59
PARTIE 3: APPROCHE QUANTITATIVE ET COMPARATIVE PAR MODELISATION		
.....		60
I.	Infectiosité totale de la carcasse .....	60
A.	Répartition des tonnages selon l'âge d'abattage .....	60
B.	Infectiosité totale de la carcasse.....	61
C.	Dispositif de surveillance et mesures de réduction de l'infectiosité des carcasses .....	62
D.	Prévalence intra-troupeau et hypothèses additionnelles .....	63
II.	Différents scénarios de réduction de l'infectiosité .....	64
A.	Réduction relative de l'infectiosité (RRI).....	67
B.	Réduction globale de l'infectiosité (RGI).....	68
PARTIE 4: RESULTATS.....		70
I.	Evolution de la charge infectieuse.....	70
II.	Quantification de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire ..	73
A.	Scénario 0/ Aucune intervention.....	73
B.	Scénario 1/ Cas d'un troupeau infecté et non détecté .....	73
C.	Scénario 2/ Cas d'un troupeau infecté et détecté .....	74
III.	Réduction globale de l'infectiosité (RGI) et impact de la sensibilité du système surveillance (SSS) .....	75
A.	Réduction globale de l'infectiosité (RGI).....	75
B.	Impact de la surveillance sur la réduction globale de l'infectiosité (RGI).....	75
C.	Variabilité selon les hypothèses d'abattage.....	77



IV. Evaluation de la sensibilité du modèle .....	79
PARTIE 5 : DISCUSSION .....	81
CONCLUSION.....	88
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	90
ANNEXES .....	98
Annexe A.....	98
Règlementation nationale (Arrêté du 27 janvier 2003 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine)	
Règlementation européenne (Règlement (EC) 999/2001)	
Annexe B.....	100
Fréquence allélique dans et hors noyau de sélection avant la sélection sur PrP (mâles et femelles avaient les mêmes fréquences)	
Annexe C.....	101
Option maximale	
Annexe D.....	105
Option minimale	
Annexe E.....	108
Résultats pour les valeurs basses des données de l'Efsa (EFSA-Q-2010-0052 2010)	

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

ADN : Acide désoxyribonucléique

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Afsset : Agence française de sécurité de l'environnement et du travail

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

APDI : Arrêté Préfectoral de Déclaration d'Infection

APMS : Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance

ATNC : Agent Transmissible Non Conventionnel

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

DSV : Direction des Services Vétérinaires

EFSA : Agence européenne de sécurité des aliments

ESB : Encéphalopathie Spongiforme Bovine

EST : Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles

ESST : Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles

FVO : Farines de viande et d'os

IHC : Immunohistochimie

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MCJ : Maladie de Creutzfeldt-Jacob

vMCJ : variante de MCJ

MICLD50 : Dose létale de 50% des souris par injection intracérébrale

MRS : Matériels à Risque Spécifiés

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

PAT : Protéines animales transformées

PK : Protéinase K

PrP : Abréviation générale pour protéine prion.

PrPc : Protéine prion normale, obtenue à partir de cellules non infectées ou également à partir de cerveaux sains. Elle est dégradée par les protéases.

PrPSc : Protéine prion associée à la pathologie (Sc pour scrapie).

PrPres : Protéine prion résistante à la protéine kinase PK.

RGE : réduction globale de l'infectiosité

RRE : Réduction relative de l'infectiosité

SNC: Système Nerveux Central

SNP : Système nerveux périphérique

SSS : Sensibilité du système de surveillance

Téc : Tonne équivalente carcasse

VLA: Veterinary Laboratory Agency

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: GENETIQUE DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE (OVINS) .....	20
TABLEAU 2: PROGRAMME DE DEPISTAGE/ SURVEILLANCE ACTIVE DES EST DES PETITS RUMINANTS EN FRANCE .....	29
TABLEAU 3: LISTE DES MATERIELS A RISQUE SPECIFIES EN FRANCE ET EN EUROPE POUR L'ESPECE OVINE.....	30
TABLEAU 4: TISSUS A HAUTE INFECTIOSITE POUR LA TREMBLANTE CLASSIQUE CHEZ DES OVINS ATTEINTS CLINIQUEMENT .....	40
TABLEAU 5: REVUE DES ETUDES DECRIVANT L'ACCUMULATION ET LA LOCALISATION DE PrPRES ET DE L'INFECTIOSITE POUR LA TREMBLANTE CLASSIQUE CHEZ LES OVINS .....	42
TABLEAU 6: INFECTIOSITE ET PrPSc ASSOCIES A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.....	45
TABLEAU 7: DISTRIBUTION QUANTITATIVE* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NON NERVEUX D'OVINS ASYMPTOMATIQUES PORTEURS DE L'ALLELE VRQ. ....	47
TABLEAU 8: DISTRIBUTION QUANTITATIVE* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NON NERVEUX D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ AU STADE CLINIQUE. ....	48
TABLEAU 9: DISTRIBUTION QUANTITATIVE* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NERVEUX D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ AU STADE CLINIQUE. ....	48
TABLEAU 10: TITRES INFECTIEUX LOGMICLD50/G DE TISSUS EXTRAITS D'OVINS PORTEURS DU GENOTYPE VRQ ET CLINIQUEMENT ATTEINTS PAR LA TREMBLANTE CLASSIQUE.....	49
TABLEAU 11: ESTIMATION MAXIMALE DU POIDS(G) DES TISSUS D'OVINS EN FONCTION DE L'AGE. ....	52
TABLEAU 12: EVOLUTION PAR TISSU DE LA CHARGE INFECTIEUSE EN LOGMICLD50 EN FONCTION DE L'AGE (OPTION MAXIMALE) POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ (A PARTIR DU TABLEAU GENERAL DE L'ANNEXE C). ....	55
TABLEAU 13: SCENARIOS D'ABATTAGE DES OVINS EN % DU TONNAGE PAR CATEGORIE D'AGE .....	60
TABLEAU 14: CHARGE INFECTIEUSE TOTALE PAR CATEGORIE D'AGE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ .....	73
TABLEAU 15: CHARGE INFECTIEUSE TOTALE D'UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.....	73
TABLEAU 16: INFECTIOSITE RESIDUELLE ET REDUCTION DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS D'UN TROUPEAU INFECTE NON DETECTE.....	74
TABLEAU 17: INFECTIOSITE RESIDUELLE ET REDUCTION DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS D'UN TROUPEAU INFECTE ET DETECTE .....	74
TABLEAU 18: REDUCTION GLOBALE DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ET UN SYSTEME DE SURVEILLANCE DONNE .....	75
TABLEAU 19: VARIATION DE RGE Fr/EU EN FONCTION DES HYPOTHESES D'ABATTAGE ET POUR DIFFERENTES SENSIBILITE DU SYSTEME DE SURVEILLANCE .....	78

## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: VIRINO ENTOURE DES PROTEINES DE L'HOTE FORMANT UNE COQUE PROTECTRICE.....	18
FIGURE 2: PROTEINES NORMALE (PRPC) ET ANORMALE (PRPSC) OBTENUE A PARTIR D'UNE PRP RECOMBINANTE DE HAMSTER SYRIAN.....	19
FIGURE 3: ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE DES EST EN FRANCE (FEDIAEVSKY, BELICHON ET AL. 2007) .....	28
FIGURE 4: REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA PATHOGENESE DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE NATURELLE (VAN KEULEN, VROMANS ET AL. 2002) POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.....	44
FIGURE 5: EVOLUTION EN FONCTION DE L'AGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE POUR LES DIFFERENTS TISSUS INFECTES D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.....	58
FIGURE 6: SCENARIO 0 "AUCUNE INTERVENTION" .....	64
FIGURE 7: SCENARIO 1 "CAS D'UN TROUPEAU INFECTE NON DETECTE" .....	64
FIGURE 8: SCENARIO 2 "CAS D'UN TROUPEAU INFECTE DETECTE" .....	65
FIGURE 9: EVOLUTION DE LA CHARGE INFECTIEUSE D'UNE CARCASSE (LOGMICLD50) INFECTEE PAR LA TREMBLANTE CLASSIQUE EN FONCTION DE L'AGE (ZOOM SUR 1-6MOIS).....	70
FIGURE 10: REDUCTION DE LA CHARGE INFECTIEUSE DUE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE SUITE A L'APPLICATION DE DIVERSES MESURES DE RETRAIT DES MRS (LOG) .....	71
FIGURE 11: POURCENTAGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE DUE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE RETIREE SUITE A L'APPLICATION DE DIVERSES MESURES DE RETRAIT DES MRS (%) .....	72
FIGURE 12: VARIATION DE LA RGI FR/EU POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS POUR UNE SSS DONNEE ET SELON L'HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE.....	76
FIGURE 13: VARIATION DE LA RGI POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE LA SSS POUR LES 4 HYPOTHESES D'ABATTAGE .....	79

## LISTE DES PHOTOGRAPHIES

PHOTO(S) A: LES TROUBLES LOCOMOTEURS PRESENTS CHEZ DES OVINS ATTEINTS DE TREMBLANTE CLASSIQUE (SOURCE) .....	24
PHOTO(S) B: COUPES HISTOLOGIQUES DE CERVEAU DE MOUTON ATTEINT PAR LA TREMBLANTE (VACUOLISATION NEURONALE) (WOOD, LUND ET AL. 1992) .....	25
PHOTO(S) C: DEPOTS AMYLOÏDES DANS LE BULBE D'UNE BREBIS ATTEINTE DE TREMBLANTE (IMMUNOHISTOCHEMIE) (SOURCE <sup>5</sup> ) .....	25

## INTRODUCTION

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST, ou ESST pour encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles), communément appelées « maladies à prions », sont des maladies neurodégénératives qui affectent de nombreux mammifères ; les plus connues sont l'ESB (Encéphalopathie Spongiforme Bovine) chez les bovins, la Tremblante chez les petits ruminants, la maladie de Creutzfeldt-Jacob chez l'homme. Toutes ces maladies sont caractérisées par leur caractère transmissible, une période d'incubation longue et silencieuse, une vacuolisation des cellules du système nerveux central (SNC) en phase terminale de la maladie (Prusiner 1998). L'agent de ces maladies est selon la théorie définie par Prusiner, un agent de nature exclusivement protéique : un Prion.

Au milieu des années 1980, une épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est apparue au Royaume-Uni et dans plusieurs autres pays européens (Wilesmith, Wells et al. 1988). Le passage de la tremblante aux bovins suspecté au début (Wells, Scott et al. 1987), fut écarté au profit d'une diffusion de la maladie suite à la consommation par les bovins de farines de viande et d'os (FVO) contaminées (Wilesmith, Wells et al. 1988; Wilesmith, Ryan et al. 1992).

En Europe, la réglementation communautaire a mis fin à l'importation de FVO britannique en 1990 (Décision 90/134/EEC). A partir de 1990, la France a mis en place un réseau de surveillance clinique de l'ESB et des mesures réglementaires de surveillance et de gestion (Arrêté, du 3 décembre 1990; Décret, du 13 juin 1990). Les premiers cas français sont apparus en 1991 (Savey 1991). Suite à une décision communautaire, l'interdiction des FVO en vigueur pour les bovins fut étendue à l'ensemble des ruminants en 1994 (Arrêté, du 20 décembre 1994), renforcée à partir de juin 1996 par une série de mesures visant à sécuriser les FVO (Arrêté, du 8 juillet 1996 ; Arrêté, du 13 juin 1996). En 2000, il fut finalement décidé de suspendre complètement l'utilisation des FVO pour toutes les espèces de rente au niveau européen (Arrêté, du 14 novembre 2000).

En 1996, une nouvelle variante de MCJ fut décrite affectant des patients exceptionnellement jeunes au RU ; un lien entre cette maladie et l'épizootie d'ESB

fut alors fortement suspecté (Will, Ironside et al. 1996). Face à l'ampleur de la crise, sanitaire, sociétale et politique, des mesures furent prises pour rassurer les consommateurs : abattage des troupeaux infectés, traçabilité accrue de la viande, élargissement de l'interdiction des FVO, retrait des MRS. Par ailleurs, compte tenu de la sous-estimation de l'ESB liée à la surveillance passive, la décision communautaire d'une surveillance à grande échelle fut prise en 2001 avec l'apparition des tests rapides sur animaux abattus, trouvés morts ou euthanasiés.

Chez les petits ruminants, la tremblante est une EST connue depuis près de deux siècles. Elle existe sous deux formes, la forme classique, et plus récemment découverte, la forme atypique (Benestad, Sarradin et al. 2003; Buschmann, Biacabe et al. 2004). Dans le contexte de crise de l'ESB bovine, le risque de transmission de cette maladie aux cheptels ovins et caprins était craint suite à la preuve de la transmissibilité expérimentale de l'ESB aux ovins par voie orale et intracérébrale (Foster, Hope et al. 1993). De plus, avant l'apparition de techniques performantes de typage de souches, il était très difficile de faire la différence entre l'ESB transmise expérimentalement aux petits ruminants et les souches de tremblantes, en raison de la ressemblance des signes cliniques et des lésions histologiques (Butler 1998; Foster, Parnham et al. 2001a; Foster, Parnham et al. 2001b).

A ce jour aucun lien épidémiologique formel entre EST animales et EST humaines n'a pu être établi, à l'exception de celui entre la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) et ESB classique. Dans son avis d'avril 2010 l'Afssa avait examiné toutes les limites et le manque de puissance des études réalisées pour essayer d'évaluer un tel lien (Afssa 2010). Le risque zoonotique de l'ESB a pu être démontré en raison d'une combinaison de circonstances favorables (émergence soudaine d'une nouvelle maladie animale, puis d'une nouvelle maladie humaine, toutes deux associées à des caractéristiques phénotypiques uniques). On ne sait pas si elles pourront être réunies pour d'autres agents des EST.

Les gestionnaires du risque considèrent qu'il est nécessaire de mettre en œuvre des mesures de gestion efficaces afin de réduire l'exposition des consommateurs aux EST des petits ruminants. Il s'agit donc de l'application du principe de précaution, lequel a conduit les autorités européennes à mettre en place des mesures pour l'ensemble des EST (Règlement (CE) N°999/2001). Il existe un consensus européen

sur l'importance de ces mesures sanitaires. Cependant, d'un point de vue pratique, la France a maintenu des mesures de gestion plus strictes pour la tremblante classique. Comparées aux mesures européennes, les mesures françaises sont différentes en ce qui concerne i) l'âge seuil et la nature de certains MRS, ii) la gestion des troupeaux infectés et iii) le devenir des produits issus de troupeaux infectés. Sur le principe de la libre circulation des marchandises, la France est tenue d'apporter les arguments qui justifient l'application de ces mesures plus strictes.

Dans la présente étude, un modèle quantitatif est proposé afin d'évaluer le bien fondé des mesures françaises par rapport aux mesures européennes. Ces mesures sont principalement le retrait des matériels à risque spécifiés à l'abattoir et l'application de la police sanitaire dans un troupeau déclaré infecté par une EST. Il propose de quantifier la réduction de l'infectiosité induite par l'ensemble des mesures de précaution. **Le critère de jugement dans cette étude est la réduction de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire.** Le modèle porte spécifiquement sur l'infectiosité associée à la tremblante classique et ne considère que les ovins et plus particulièrement les individus sensibles, porteurs de l'allèle VRQ, pour lesquels des données sont disponibles. Il s'intéresse strictement aux animaux élevés et abattus sur le territoire national, et ne prend pas en compte les volumes d'importation des autres états membres de l'Union Européenne.

La première partie de synthèse bibliographique apporte un éclaircissement sur les prions, les maladies dont ils sont responsables, en particulier chez les petits ruminants. Il dresse un état des lieux des différents modèles mathématiques proposant une approche théorique conduisant à une meilleure compréhension des maladies.

La deuxième partie reprend l'ensemble des données acquises à ce jour sur l'estimation de l'infectiosité pour la tremblante classique dans les tissus de petits ruminants et les résultats du rapport de 2010 du panel Biohaz de l'EFSA intitulé « *BSE/TSE infectivity in small ruminants tissues* » (EFSA-Q-2010-0052 2010). La partie présentant un intérêt tout particulier pour la présente étude, concerne l'évaluation de la distribution de l'infectiosité en fonction de l'âge. Les données relatives à l'infectiosité sont présentées d'un point de vue qualitatif avec la



distribution de l'infectiosité dans les différents tissus, puis quantitatif avec l'estimation de la charge infectieuse dans ces mêmes tissus.

La troisième partie est consacrée à la présentation du modèle, lequel repose sur la comparaison de différents scénarios : absence d'intervention, mesures appliquées au cas d'un troupeau infecté non détecté et mesures pour le cas d'un troupeau infecté détecté. L'évaluation des mesures de police sanitaire repose sur la capacité du système de surveillance d'identifier les troupeaux infectés. Ceci constitue une nouvelle approche apportant une comparaison des mesures françaises et européennes. Celles-ci sont analysées par rapport au niveau de surveillance choisi.

La quatrième partie présente les résultats du modèle. L'approche comparative des mesures de précaution offre aux gestionnaires un outil d'évaluation de l'impact de ces mesures mises en place pour accroître la protection du consommateur. Par une approche globale, le modèle est en mesure de comparer les mesures françaises aux mesures européennes, en y incluant à la fois les mesures de protection du consommateur (retrait des MRS) et les mesures de contrôle de la maladie au sein de troupeaux ovins (police sanitaire).

Le dernier chapitre offre un regard critique sur le modèle et les hypothèses qui sont posées, ainsi que les limites de cette approche.

Il est important de signaler aux lecteurs que le modèle présenté ici, correspond à une étape intermédiaire. D'autres développements sont en cours à l'Agence et la version finale sera disponible après publication de l'avis par l'Agence en mars 2013. A l'avis de l'Agence, sera annexé un rapport reprenant les principaux aspects méthodologiques et techniques du modèle.

## **PARTIE 1: MALADIES A PRION : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST), dont le responsable est une forme anormale de la protéine prion, sont connues depuis au moins deux siècles chez les animaux et depuis un siècle chez l'homme. Dès le XVIIIe siècle, la tremblante du mouton (ou "*scrapie*" en anglais) a ainsi été décrite et la forme classique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), décrite indépendamment par Creutzfeldt (1920) et Jakob (1921), a fait l'objet d'études cliniques au début du XXe siècle.

### **I. Les maladies à prion**

#### *A. Des maladies affectant l'homme et les animaux*

Les maladies à prions regroupent plusieurs maladies chez l'homme et l'animal, lesquelles présentent des caractéristiques communes.

##### *a) Des caractéristiques communes*

Une caractéristique commune des maladies à prions est leur transmissibilité interhumaine ou interespèces, chaque souche de prion déterminant la période d'incubation, le tableau clinique et le type de lésions cérébrales.

Les critères communs aux différentes ESST sont les suivants (Detwiler and Rubenstein 2000):

- *Une longue période d'incubation se comptant en mois voire en années.*
- *Des maladies neurologiques débilantes et progressives avec une issue toujours fatale.*
- *Des modifications pathologiques limitées au système nerveux central.*
- *Une transmission possible expérimentalement et naturellement.*
- *Une impossibilité à induire une réaction immunitaire spécifique chez l'hôte suite à une transmission à partir d'animaux atteints.*
- *Une possible transmission, au moins expérimentalement d'une espèce à une autre.*

Ces similitudes entre les diverses ESST permettent d'en faire un groupe à part au sein des encéphalopathies, notamment du fait de la transmission interspécifique qui leur est propre. Cependant, elles présentent également des spécificités importantes dans le cadre du diagnostic, de la prévention et du contrôle des ESST.

**b) Espèces cibles et origines principales (Fediaevsky 2009)**

<b>Maladie nom anglais (acronyme)</b>	<b>Principales espèces atteintes (hors conditions expérimentales) (nom scientifique)</b>	<b>Origine principale</b>	<b>Première description</b>
Tremblante <i>Scrapie</i>	Mouton ( <i>Ovis aries</i> ) Chèvre ( <i>Capra hircus</i> ) Mouflon ( <i>Ovis aries musimon</i> )	Contagieuse	(Comber and Morborne 1772)
Creutzfeldt-Jakob sporadique <i>Sporadic Creutzfeldt-Jakob (sCJD)</i>	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Inconnue – spontanée ?	Jakob, 1921, reviewed by (Prusiner 1993)
Gertsman-Straüssler-Scheinker (GSS)	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Héréditaire	Gerstmann 1936, reviewed by (Prusiner 1993)
Kuru	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Alimentaire (cannibalisme en Papouasie Nouvelle-Guinée)	Gajdusek et Zigas, 1957 reviewed by (Prusiner 2008)
Encéphalopathie spongiforme du vison <i>Mink transmissible encephalopathy (TME)</i>	Vison d'Amérique ( <i>Neovison vison</i> )	Alimentaire	(Hartsough and Burger 1965)
Creutzfeldt-Jakob iatrogène <i>Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob (iCJD)</i>	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Iatrogène	(Duffy, Wolf et al. 1974)
Creutzfeldt-Jakob familial <i>Genetic or familial Creutzfeldt-Jakob (gCJD, fCJD)</i>	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Héréditaire	(Rosenthal, Keeseey et al. 1976)
Maladie du dépérissement chronique des cervidés <i>Chronic wasting disease (CWD)</i>	Cerf mulot ( <i>Odocoileus hemionus hemionus</i> ) Cerf de Virginie ( <i>Odocoileus virginianus</i> ) Cerf de Colombie ( <i>Odocoileus hemionus columbianus</i> ) Wapiti ( <i>Cervus elaphus nelsoni</i> ) Orignal ( <i>Alces americanus</i> )	Contagieuse	(Williams and Young 1980)
Insomnie Fatale Familiale <i>(Lugaresi, Medori et al. 1986)(FFI)</i>	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Héréditaire	(Lugaresi, Medori et al., 1986)
Encéphalopathie spongiforme bovine <i>Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)</i>	Bovin ( <i>Bos taurus taurus</i> ) Nyala ( <i>Tragelaphus angasii</i> ) Gemsbok ( <i>Oryx gazella</i> ) Oryx d'Arabie ( <i>Oryx leucoryx</i> ) Eland ( <i>Taurotragus oryx</i> ) Watusi ( <i>Bos primigenius taurus</i> ) Grand kudu ( <i>Tragelaphus strepsiceros</i> ) Oryx blanc ( <i>Oryx dammah</i> )	Alimentaire (farines animales)	(Wells, Scott et al. 1987)

	Bison ( <i>Bison bison</i> ) Chèvre ( <i>Capra hircus</i> ) Zébu ( <i>Bos taurus indicus</i> )		
Encéphalopathie spongiforme féline <i>Feline spongiform encephalopathy (FSE)</i>	Chat ( <i>Felis catus</i> ) Puma ( <i>Puma concolor</i> ) Guépard ( <i>Acinonyx jubatus</i> ) Chat de Temminck ( <i>Catopuma temminckii</i> ) Ocelot ( <i>Leopardus pardalis</i> ) Tigre ( <i>Panthera tigris</i> ) Lion ( <i>Panthera leo</i> ) Leopard ( <i>Prionailurus bengalensis</i> )	Alimentaire (agent de l'ESB)	(Pearson, Gruffydd-Jones et al. 1991)
Variante de Creutzfeldt-Jacob <i>Variant Creutzfeldt-Jakob (vCJD)</i>	Homme ( <i>Homo sapiens</i> )	Alimentaire (agent de l'ESB)	(Will, Ironside et al. 1996)
Tremblante atypique incluant Nor98 <i>Atypical scrapie (AS)</i>	Mouton ( <i>Ovis aries</i> ) Chèvre ( <i>Capra hircus</i> )	Inconnue – spontanée ?	(Benestad, Sarradin et al. 2003)
Encéphalopathie spongiforme bovine atypique de formes H et L <i>Bovine atypical spongiform encephalopathy (BASE)</i>	Bovin ( <i>Bos taurus taurus</i> )	Inconnue – spontanée ?	(Biacabe, Laplanche et al. 2004)

### *B. Le prion : un agent transmissible non conventionnel*

Le prion est encore assez méconnu, d'où son nom d' « agent transmissible non conventionnel » (ATNC) par opposition aux agents conventionnels que sont les bactéries, virus ou parasites. Les propriétés biologiques des ATNC sont très particulières. L'absence de modification de constantes biologiques dans le sang ou dans le LCR et l'absence de réaction inflammatoire et donc de synthèse d'anticorps spécifiques sont parmi leur particularités biologiques les plus notables. Ils ont des titres élevés, comme les agents infectieux classiques.

#### **a) Du virus non identifié au prion**

D'une hypothèse virale ou d'un virus au départ, l'hypothèse communément admise aujourd'hui par la communauté scientifique est celle de l'agent infectieux protéique ou prion.

#### ***La théorie du virus***

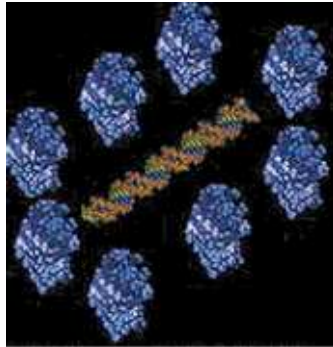
La première hypothèse soulevée par Sigurdsson en 1954 fut celle d'un virus, appelé « virus lent » à propos de l'agent responsable de la tremblante. Celui-ci posséderait des caractéristiques biochimiques et physiques non usuelles, qui lui permettraient d'entraîner les particularités physicochimiques du déroulement des ESST. Ce virus aurait un acide nucléique de très petite taille et un matériel protéique lui permettant d'assurer sa réplication (Detwiler and Rubenstein 2000).

En 1994, ont été découverts des éléments de petite taille dans des cerveaux de hamster infectés expérimentalement par la tremblante, puis dans les cerveaux d'humains atteints de MCJ (Ozel and Diringer 1994). La découverte de particules de petite taille et de densité compatibles avec des virus et le fait que certains virus latents puissent échapper à la reconnaissance par les anticorps et donc ne pas engendrer de réponse immunitaire est en faveur de l'hypothèse d'un virus ((Lu, Baker et al. 2004)).

Cependant cette hypothèse n'a pas été retenue par la plupart des scientifiques, du fait de l'absence de détection d'acides nucléiques ou de toute structure évocatrice d'un virus, de l'absence de réactions immunitaires et de l'aspect héréditaire de certaines ESST.

### ***...en passant par le virino***

Selon cette théorie, le virino est une structure hybride comprenant un très petit acide nucléique infectieux nu ne codant pour aucune protéine virale susceptible d'être reconnue par le système immunitaire. Il est cependant capable de se lier intimement à des protéines de l'hôte, qui formeraient ainsi une coque pour le protéger (Figure 1) (Detwiler and Rubenstein 2000).



***FIGURE 1: VIRINO ENTOURE DES PROTEINES DE L'HOTE FORMANT UNE COQUE PROTECTRICE.***  
(SOURCE : SITE DE L'INRA [HTTP://WWW-ROCQ.INRIA.FR/WHO/MARC.THIRIET/GLOS R/BIO/MICRO/PRION. HTML](http://www-rocq.inria.fr/who/marc.thiriet/glosr/bio/micro/prion.html) ).

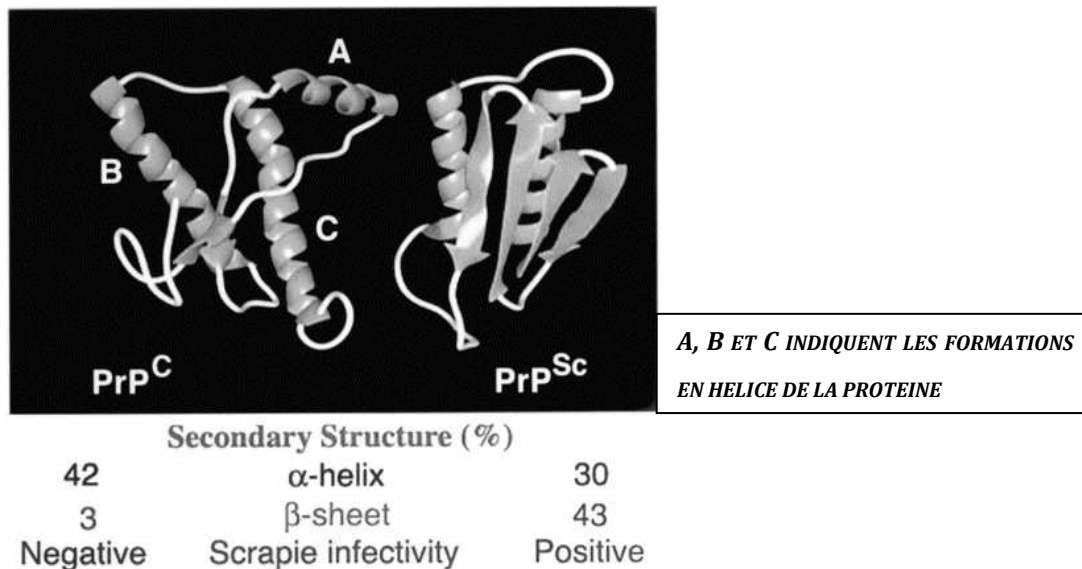
Toutefois la théorie du virino n'a jamais été envisagée comme agent causal des ESST de la part de l'ensemble des scientifiques travaillant sur les prions.

### ***...vers la théorie retenue du prion***

Selon la théorie du prion, le responsable serait une protéine (la PrP<sup>Sc</sup> pour Prion Protein Scrapie ou PrP<sup>Res</sup> pour Prion Protein Résistante) résultant de la trans-conformation d'une protéine cellulaire normale de l'hôte (la PrP<sup>C</sup> pour Prion Protein Cellulaire). Cette protéine anormale s'accumulerait dans différents organes au cours de l'évolution de la maladie, en particulier dans le système nerveux central, entraînant la mort des cellules nerveuses.

La théorie de la protéine infectieuse a été proposée dès le début des années 1980 (Prusiner 1982). En 1967, John Griffith proposa l'hypothèse d'un agent infectieux étant un isoforme conformationnel d'une protéine de l'hôte et agissant comme un catalyseur ensuite, convertissant la protéine normale en protéine anormale. Cette hypothèse permettrait d'expliquer le caractère héréditaire et transmissible des ESST (Griffith 1967).

La protéine normale (PrP<sup>c</sup>) est naturellement synthétisée par de nombreuses cellules, en particulier les neurones. Elle peut être dégradée *in-vitro* sous l'action de la protéinase K (PK, enzyme protéolytique). L'isoforme pathologique de cette protéine (PrP<sup>sc</sup>), est partiellement résistante à l'action de cette enzyme et, sous forme d'oligomères, s'accumulent principalement dans le SNC. La PrP<sup>res</sup>, produit de dégradation de la PrP<sup>sc</sup> sous l'action de la PK, et marqueur spécifique des EST (Bolton, McKinley et al. 1982), est mis en évidence par des techniques biochimiques ou immunohistochimiques. Extrait d'une publication scientifique de 2002 (DeArmond and Bouzamondo 2002), la figure 2 propose une représentation graphique des protéines normale (PrP<sup>c</sup>) et anormale (PrP<sup>sc</sup>).



**FIGURE 2:** PROTEINES NORMALE (PrP<sup>c</sup>) ET ANORMALE (PrP<sup>sc</sup>) OBTENUE A PARTIR D'UNE PRP RECOMBINANTE DE HAMSTER SYRIAN.

### **b) Fonctions biologiques de la protéine prion cellulaire**

La PrP<sup>c</sup> participerait à la régulation de l'activité superoxyde dismutase (SOD) (Brown, Wong et al. 1999; Aguzzi, Baumann et al. 2008) et à l'homéostasie intracellulaire du cuivre (Brown, Qin et al. 1997; Pauly and Harris 1998; Leclerc, Serban et al. 2006). D'autres fonctions cellulaires incluraient une protection vis-à-vis de l'apoptose (Aguzzi, Baumann et al. 2008), et une participation à l'adhésion cellulaire au niveau des dendrites et des axones (Graner, Mercadante et al. 2000).

### c) *Le gène PRNP*

Le gène PRNP codant pour la PrP<sub>c</sub> est présent chez tous les vertébrés (Rongyan, Xianglong et al. 2008) et également chez les oiseaux (Harris, Huber et al. 1993). Chez les ovins, il a été mis en évidence par Goldmann et al., et il est porté par le chromosome 13 (Goldmann, Hunter et al. 1990). Le gène PRNP code ainsi une protéine pouvant exister sous deux isoformes : la PrP<sub>c</sub> (protéine prion cellulaire) présente chez tous les individus, et la PrP<sup>Sc</sup> (protéine prion scrapie) que l'on n'observe que chez des individus atteints d'une maladie à prion.

L'expression de la PrP<sub>c</sub> est la plus abondante dans le SNC au niveau des neurones (Kretzschmar, Prusiner et al. 1986) et des cellules gliales (Moser, Colello et al. 1995) et dans une moindre mesure dans de nombreux autres tissus tels que la rate, les nœuds lymphatiques, les poumons, le cœur, les reins, les muscles squelettiques, l'utérus, les surrénales, l'intestin, le proventricule, l'abomasum et les glandes mammaires.

Le polymorphisme à ce gène chez l'homme et la souris est associé à des différences d'incidence des ESST (Smits, Bossers et al. 1997). Chez le mouton, de telles associations ont été mises en évidence dans les années 1990 chez plusieurs races. Trois codons du gène PRNP (les 136, 154, 171) sont impliqués dans la tremblante classique. La dénomination des allèles se fait par la désignation des 3 codons par 3 lettres désignant les acides aminés. Par exemple ARR signifie alanine (A) en 136, arginine (R) en 154 et à nouveau arginine (R) en 171. Le tableau 1 présente les différentes combinaisons possibles et l'association aux différents niveaux de sensibilité des individus obtenus par plusieurs études expérimentales.

**TABLEAU 1: GENETIQUE DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE (OVINS)**

Codon			Allèle	Effet associé
136	154	171		
A (Ala)	R (Arg)	Q (Gln)	ARQ	Sensibilité
V (Val)	R (Arg)	Q (Gln)	VRQ	Hyper Sensibilité
A (Ala)	H (His)	Q (Gln)	AHQ	Résistance
A (Ala)	R (Arg)	R (Arg)	ARR	Hyper Résistance

*SOURCE : AGROPARISTECH, E.VERRIER, X.ROGNON, G.LEROY, T.HEAMS, CHAPTER III, JANVIER 2009*

Dans le cas de la tremblante atypique, une mutation au codon 141, résultant en un remplacement de Leucine –L par Phénylalanine – F, et trouvé exclusivement chez



les animaux ARQ (animaux sensibles pour la tremblante classique), est associé à une plus forte probabilité de la maladie (Moum, Olsaker et al. 2005).

### *C. Cas des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ovines*

Les souches d'EST communes à tous les petits ruminants, et reconnues par l'Agence Européenne de Sécurité Alimentaire (EFSA) depuis 2005, sont au nombre de 3 : l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), la tremblante classique et la tremblante atypique.

#### *a) L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)*

L'ESB touche les bovins adultes (âgés de 3 à 6 ans) et entraînant, après une incubation longue, des troubles nerveux sensitifs et moteurs, évoluant lentement vers une dégradation de l'état général et la mort. La souche d'ESB a la capacité de franchir la barrière d'espèce dans les conditions naturelles, et les données expérimentales suggèrent fortement le passage à l'homme et l'émergence de la nouvelle variante de Creutzfeldt-Jacob (vMCJ).

Depuis la démonstration en 1993 de la transmission expérimentale de l'ESB par voie orale aux petits ruminants (Foster, Hope et al. 1993), la question d'une contamination naturelle est posée. L'analyse des facteurs d'exposition permet de considérer que les conditions ont été réunies par le passé. En effet l'interdiction totale des farines animales date de novembre 2000. Ainsi, au Royaume Uni, les farines n'ont été interdites chez les petits ruminants qu'en 1988 et des conditions de contamination croisées ont pu exister au moins jusqu'en 1996, date d'interdiction complète de ces farines dans toutes les espèces. En France, l'utilisation de ces farines a été interdite en 1994. Malgré le retrait des MRS en 1996 pour la fabrication des farines destinées aux non ruminants, des risques de contamination ont pu subsister, comme le suggère l'apparition de cas bovins nés après cette date.

Un cas suspect d'ESB sur une chèvre contaminée à l'état naturel et abattue en 2002 a été confirmé par un panel de scientifiques en janvier 2005 (Eloit, Adjou et al. 2005). Ce cas a été découvert en France, grâce au programme de surveillance, lequel suite à ce cas a été renforcé. Ce troupeau situé en Ardèche et constitué de 300 chèvres, a été abattu et les carcasses détruites. Les animaux abattus ont tous été testés et toutes les analyses ont été négatives. Depuis, l'existence d'ESB chez les petits ruminants en conditions naturelles a été confirmée sur une chèvre en Ecosse

(Dustan, Spencer et al. 2008). Soient 2 cas en Europe sur des millions d'animaux testés.

Les données ne suggèrent pas une distribution tissulaire différente de l'agent responsable de l'ESB chez les petits ruminants par rapport aux données connues en matière de tremblante (Afssa 2002).

### ***b) La tremblante atypique***

La tremblante atypique regroupe la souche Nor98 découvert en Norvège en 1998 (Benestad, Sarradin et al. 2003) et les autres isolats détectés dans les autres pays, sans qu'aucune différence n'ait pu être constatée à ce jour.

Les animaux atteints de tremblante atypique sont infectés par des souches présentant des caractéristiques physiopathologiques particulières (PrPres détectable uniquement dans le SNC) et un phénotype ESST différent (absence de prurit). Cependant la physiologie de la tremblante atypique est encore assez méconnue (Benestad, Arsac et al. 2008).

La PrP<sub>sc</sub> et les lésions histopathologiques sont principalement présentes au niveau du cervelet et de façon inconstante dans le tronc cérébral et dans le cerveau (Benestad, Sarradin et al. 2003). D'après la même étude, les organes lymphoïdes périphériques n'ont été trouvés positifs dans aucune étude. Une seule communication orale fait état de la détection d'une infectiosité périphérique au niveau d'un nœud lymphatique pré-scapulaire et d'un marquage au niveau du nerf sciatique en phase terminale d'un ovin infecté par inoculation intracérébrale, en faveur d'une dissémination centrifuge de l'agent (Andréoletti and Herva 2008). De plus il est à souligner un manque de corrélation entre l'infectiosité et la détection de PrP<sub>sc</sub> démontré par le fort taux de transmission obtenu à partir de tissus nerveux avec un faible marquage par la PrP<sub>sc</sub> (Le Dur, Beringue et al. 2005).

Les animaux atteints de la tremblante atypique sont généralement plus âgés que ceux atteints de la tremblante classique (Luhken, Buschmann et al. 2007). Ils ne semblent pas non plus présentés de liens épidémiologiques évidents (Benestad, Sarradin et al. 2003; Luhken, Buschmann et al. 2007). Les cas secondaires, ceux détectés dans un troupeau à la suite d'un cas index, sont rares. L'origine endogène

prédomine de ces éléments de physiopathologie (Benestad, Sarradin et al. 2003; Luhken, Buschmann et al. 2007; Benestad, Arsac et al. 2008).

Les statistiques publiées sur le site du ministère français de l'agriculture ne font la distinction entre les tremblantes que depuis 2010. Les cas nationaux de tremblante atypique représentent désormais la majorité des cas français de tremblante avec 30 cas en 2011, contre 4 de tremblante classique<sup>1</sup>.

### ***c) La tremblante classique***

La tremblante du mouton est une maladie naturelle décrite depuis le milieu du 18<sup>ème</sup> siècle, qui en plus de son caractère transmissible, est également contagieuse. Depuis le décret du 14 juin 1996, la tremblante des petits ruminants est devenue une maladie à déclaration obligatoire. La tremblante classique regroupe au moins une vingtaine de souches isolées chez la souris (Bruce, Boyle et al. 2002).

Enzootique dans de nombreux pays, sa transmissibilité à l'homme n'a pas été démontrée; cependant, les résultats d'études expérimentales sur la transmission de l'ESB au mouton ont conduit à considérer cette maladie comme un problème de santé publique. En effet, l'ESB des petits ruminants ne peut se distinguer de la tremblante naturelle sur le plan clinique, histopathologique ou biochimique (Foster, Parnham et al. 2001a).

L'âge d'apparition de la maladie se situe entre 2 et 5 ans (avec un âge médian à 3,5 ans) mais des cas sont décrits chez des animaux plus jeunes (jusqu'à 1 an) et plus âgés (jusqu'à 7 ans) (Parry 1962; Clark and Moar 1992; Wineland, Detwiler et al. 1998; Baylis 2002; Tongue, Wilesmith et al. 2004; Cockcroft and Clark 2006). Le génotype associé au gène PRNP influe sur l'âge d'apparition des signes cliniques et de la durée d'incubation. La durée d'incubation pouvant excéder la durée de vie de l'animal, cela résulte en l'existence de porteurs asymptomatiques ou d'animaux mourant d'une autre cause à l'état pré-symptomatique et potentiellement infectieux (Hill and Collinge 2003; Georgsson, Adolfsdottir et al. 2008). La phase clinique dure entre 4 et 6 mois habituellement, et ses manifestations sont variables. Les principaux symptômes sont :

---

<sup>1</sup> Source: <http://agriculture.gouv.fr/tremblante>

- une ataxie avec une démarche hésitante et des chutes au sol
- le grincement des dents
- une modification du comportement (crainte ou agressivité excessive)
- un prurit souvent en région dorso-lombaire (perte de laine, plaies d'automutilation)
- des tremblements surtout céphaliques.

A ces troubles, s'ajoutent souvent une cécité et une émaciation progressive (D'Angelo, Maurella et al. 2007). L'évolution est toujours irréversible et conduit à la mort en 2 à 6 mois (33).



***PHOTO(S) A: LES TROUBLES LOCOMOTEURS PRESENTS CHEZ DES OVINS ATTEINTS DE TREMBLANTE CLASSIQUE (SOURCE<sup>2</sup>)***

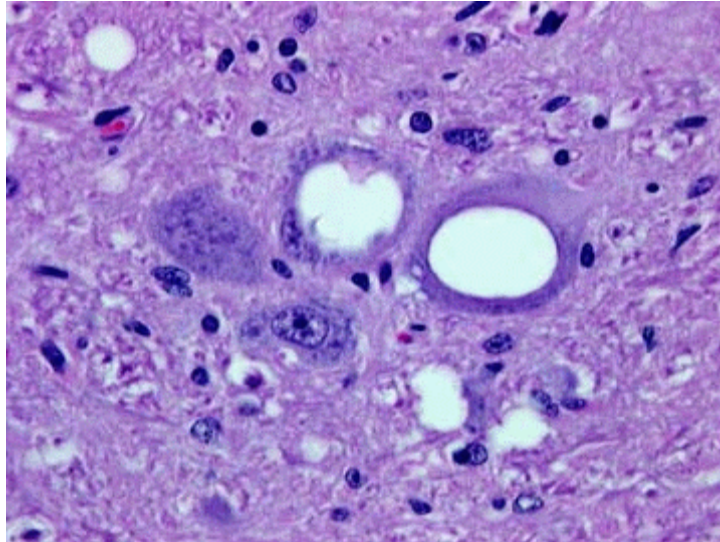
En ce qui concerne les lésions, elles sont macroscopiques et microscopiques. Les lésions macroscopiques sont en lien avec les symptômes mais non pathognomoniques de la tremblante (lésions de grattage entraînant alopecie et lésions cutanées, lésions liées aux troubles moteurs, amaigrissement) (Photo A).

Les lésions microscopiques, plus caractéristiques de la tremblante, sont :

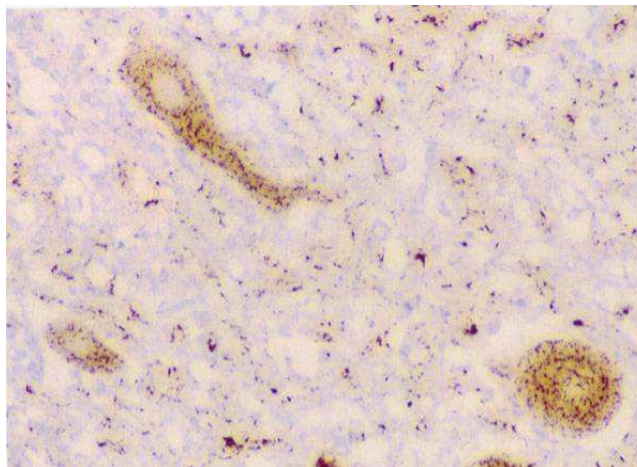
- Sur le plan neuronal, au niveau de l'encéphale (bulbe, cervelet et mésencéphale principalement), elles sont plus ou moins marquées selon la souche et l'espèce animale :
  - La vacuolisation neuronale entraînant la spongiose (Photo B)
  - La perte neuronale plus ou moins marquée,

<sup>2</sup> Atlas de pathologie ovine (2002) : La tremblante, 204-207. FERRER L.M., GARCIA DE JALON J.A., DE LAS HERAS M.

- La présence de plaques amyloïdes correspondant aux agrégats de PrPres (visibles à la coloration au Rouge Congo) (Photo C),
- Une astrocytose (multiplication des astrocytes)



***PHOTO(S) B: COUPES HISTOLOGIQUES DE CERVEAU DE MOUTON ATTEINT PAR LA TREBLANTE (VACUOLISATION NEURONALE) (WOOD, LUND ET AL. 1992)***



***PHOTO(S) C: DEPOTS AMYLOÏDES DANS LE BULBE D'UNE BREBIS ATTEINTE DE TREBLANTE (IMMUNOHISTOCHEMIE) (SOURCE<sup>5</sup>)***

- Les lésions sont également trouvées dans divers organes du système immunitaire : amygdales, rate, ganglions lymphatiques...

#### D. Principales méthodes de diagnostic des EST ovines

Compte tenu du caractère protéiforme des EST ovines, un diagnostic clinique de suspicion est difficile. En l'absence de réaction immunitaire humorale, il n'est pas possible de rechercher les anticorps. Le diagnostic des différentes souches d'EST passe par un examen en laboratoire. Il est possible, pour la tremblante classique et l'ESB, d'effectuer des prélèvements du vivant de l'animal ; ces prélèvements de formations lymphoïdes secondaires comme les amygdales, la membrane nictitante ou le nœud lymphatique rétro pharyngien permettent un diagnostic plus sensible et plus précoce qu'avec l'examen de l'obex. Les principales techniques d'analyse des EST en laboratoire sont :

- *Immunohistochimie (IHC)* : méthode reposant sur le marquage de coupes de tissus avec des anticorps monoclonaux (visant spécifiquement certains épitopes de la PrPsc).
- *Western Blot* : méthode de référence pour l'OIE qui repose sur la séparation des constituants après traitement sur gel par électrophorèse et une révélation au moyen d'anticorps spécifiques.
- *Inoculation sur souris (bio essais)* : méthode utilisée pour différencier les différentes souches d'EST, en se basant sur les durées d'incubation, les profils lésionnels et les caractéristiques biochimiques de la PrPsc.
- Tests rapides sur obex : méthode développée à l'échelle commerciale et utilisée en routine. Ces tests ont été évalués pour l'analyse de prélèvement d'obex pour le diagnostic de l'ESB chez les bovins. Ils ont ensuite été utilisés, non validés, pour le dépistage des EST chez les petits ruminants. Un certain nombre de tests a été validé en 2005<sup>3</sup> par l'Agence européenne de sécurité des aliments (EFSA). L'absence de tests in-vivo durant l'incubation de la maladie, la longue durée d'incubation et la sensibilité des tests dits « rapides » (seul 1 individu sur 2 atteint de tremblante classique est détecté : un test négatif sur obex ne signifie pas un animal négatif, l'agent pouvant se trouver en périphérie au stade d'infection considéré) conduisent à une sous-estimation de la prévalence (Afssa-2 2007).

---

<sup>3</sup> European Food Safety Authority (2005). "Scientific Report of the European Food Safety Authority on the Evaluation of Rapid post mortem TSE Tests intended for Small Ruminants." The EFSA Scientific Report 31 and 49.

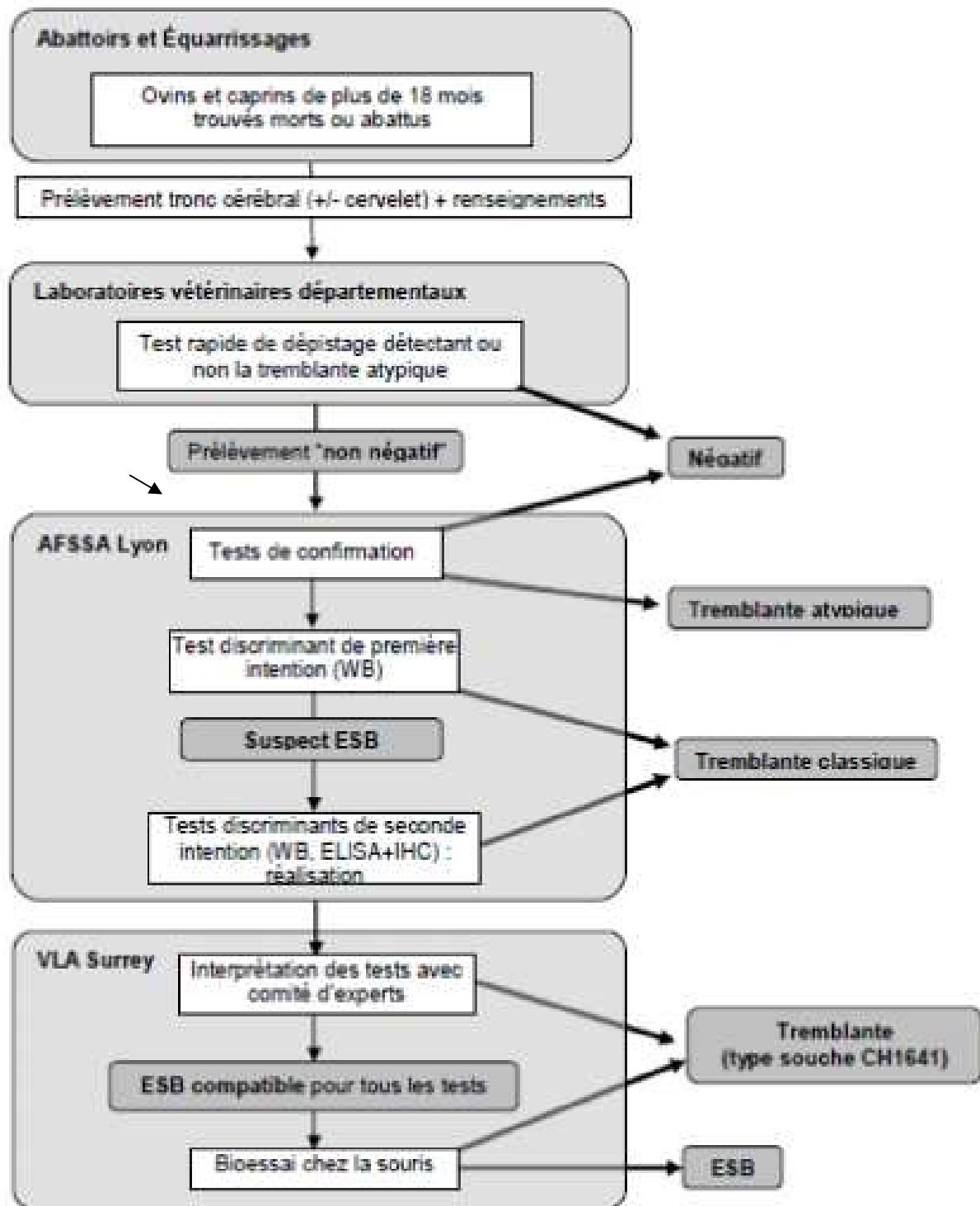
## II. Mesures de gestion des EST ovines

### A. *Dépistage des EST chez les petits ruminants*

Depuis 2002, et conformément à la réglementation communautaire, une surveillance active est réalisée sur un échantillon de la population ovine à l'abattoir et l'équarrissage en réalisant un test rapide biochimique de dépistage de l'EST. Ce programme est nommé actif pour le différencier de la surveillance des cas cliniques, dite passive. Le dispositif permet une meilleure estimation de la prévalence de la maladie et de son évolution, ce que la simple surveillance passive, utilisée seule jusqu'alors ne permettait plus. Suite à la découverte d'un cas d'ESB confirmé chez une chèvre en France en 2005, la surveillance active est montée progressivement en puissance, d'abord en équarrissage puis en abattoir pour atteindre l'exhaustivité pendant la période 2006 -2007. De 2006 à 2007 tous les petits ruminants de plus de 18 mois abattus, morts ou euthanasiés subissent systématiquement un test rapide sur obex pour la recherche des EST (Tremblantes classique et atypique, ESB). En juillet 2007, la procédure de surveillance est repassée au sondage.

Ainsi depuis 2002, chaque état membre est tenu d'effectuer une surveillance active des EST chez les petits ruminants. Le tableau 2 présente les dispositions légales concernant le dépistage pour les petits ruminants dans le cadre européen. En pratique, la France a choisi de renforcer le dépistage à l'équarrissage. Dès 2012, en accord avec la réglementation européenne sont entrées en vigueur de nouvelles dispositions. En effet les précédentes disparités géographiques ont biaisé les résultats de surveillance et ont nécessité un ajustement des mesures.

Le dispositif, décrit dans la figure 3, a conduit à la confirmation de plus de 1300 cas de tremblante chez les petits ruminants en France. D'environ 250 cas confirmés en 2002, 96 cas en 2005, le nombre de foyers est descendu à une trentaine de cas annuels depuis 2009 (première année où les deux formes classique et atypique de la tremblante ont pu être distinguées). Depuis ce chiffre s'est maintenu, environ 30 cas annuels de tremblante atypique et 5 à 6 fois moins de cas pour la tremblante classique.



**FIGURE 3: ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE DES EST EN FRANCE (FEDIAEVSKY, BELICHON ET AL. 2007)**



**TABLEAU 2: PROGRAMME DE DEPISTAGE/ SURVEILLANCE ACTIVE DES EST DES PETITS RUMINANTS EN FRANCE<sup>4</sup>**

<b>Avant 2012</b>	<b>Dépistage par sondage dans les populations de petits ruminants âgés de plus de 18 mois</b>				
		Abattoir (destinés à consommation humaine)		Équarrissage (animaux morts ou euthanasiés)	
		France	CE*	France	CE*
	OVINS	10000	10000	40000	10000
	CAPRINS	10000	10000	exhaustif	10000
*taille minimale annuelle d'échantillon					
<b>Depuis 2012 : le nombre annuel de tests rapides pour recherche des EST, à réaliser sur les ovins et caprins, est défini de façon différente à l'équarrissage et à l'abattoir</b>	<b>Dépistage par sondage dans les populations de petits ruminants âgés de plus de 18 mois</b>				
		Abattoir (destinés à consommation humaine)		Équarrissage (animaux morts ou euthanasiés)	
		France	CE*	France **	CE*
	OVINS	3%	10000	40000	10000
	CAPRINS	9,1%	10000	exhaustif	10000
*taille minimale annuelle d'échantillon					
**Répartition détaillée des prélèvements par mois et par site de prélèvement					

Plan d'échantillonnage:

Prélèvements non ciblés sur l'origine géographique ou l'état physique des animaux, leur âge, sexe ou race, ni sur la présence ou l'absence d'identification, ni sur le jour d'abattage ou de collecte. Eviter les animaux se suivant sur la chaîne d'abattage. Prélever à minima 4% de carcasses ovines destinées à l'alimentation d'oiseaux nécrophages, pour test négatif avant utilisation.

<sup>4</sup> Note de service DGAL/SDSPA/N2012-8042 (22/02/2012) : <http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/DGALN20128042Z.pdf>

## B. Les mesures prophylactiques

Il existe plusieurs mesures prophylactiques visant à limiter la circulation de la maladie et empêcher l'infectiosité d'entrer dans la chaîne alimentaire: le retrait des matériels à risque spécifiés (MRS), l'interdiction des protéines animales transformées (PAT) et le programme de sélection génétique.

La mise en évidence d'un déterminisme génétique de la tremblante chez les ovins permet de mettre en place une stratégie d'éradication pérenne de la maladie reposant sur l'amélioration génétique des races ovines françaises. Seules les deux autres mesures sont abordées plus en détails ici.

### a) Retrait à l'abattoir des matériels à risque spécifiés (MRS)

Les MRS sont les principaux organes porteurs de charge infectieuse chez un animal atteint d'EST. Selon la réglementation européenne, les MRS sont retirés de la chaîne alimentaire dans les établissements d'abattage et de découpe (Règlement (CE) 1069/2009<sup>5</sup>). Selon l'annexe V, point 1, lettre (b) du Règlement (EC) 999/2001, il existe une liste de MRS pour les petits ruminants au niveau européen (MRS Europe). Une liste plus drastique a été adoptée par la France (MRS France). Cette liste française est encore plus étendue dans le cadre de la police sanitaire (MRS France +). Le tableau 3 présente les listes des MRS pour l'espèce ovine.

***TABLEAU 3: LISTE DES MATERIELS A RISQUE SPECIFIES EN FRANCE ET EN EUROPE POUR L'ESPECE OVINE***

	MRS Europe	MRS France	MRS France+
	<b>Europe (CE) N°999/2001</b>	<b>France (Arrêté du 15 juin 2010)</b>	
Iléon	Tout âge	Tout âge	Tout âge Totalité des intestins
Rate	Tout âge	Tout âge	Tout âge
Moelle épinière	>12mois	>13kgs	Tout âge
Encéphale	>12mois	>6 mois	Tout âge Totalité de la tête
Crâne*	>12mois	>1 mois	
Amygdales	>12mois	>1 mois	
Yeux	>12mois	>1 mois	

*\*Le crâne correspond à la tête sans les masséters, la langue et la mandibule.*

<sup>5</sup> Regulation (EC) No 1069/2009 of 21 October 2009 laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and repealing Regulation (EC) No 1774/2002 (Animal by-products regulation)

### **b) Protéines animales transformées (PAT)**

Avant les années 2000 les farines animales (souvent désignées sous le terme *farines de viande et d'os, FVO*) étaient fabriquées à partir d'un ensemble de sous-produits animaux. Certains de ces sous-produits se sont avérés présenter des risques pour la santé des hommes et des animaux. Afin de diminuer la circulation des agents pathogènes et l'exposition des espèces animales sensibles, l'interdiction des farines animales constitue une mesure phare de lutte contre les EST.

Une série de mesures a été prise en France, à partir de 1989, concernant l'utilisation des farines animales dans l'alimentation des animaux (Anses 2011). Les principales sont les suivantes :

- Août 1989 : embargo sur les farines animales britanniques ;
- Juillet 1990 : les farines animales autres que celles issues du lait, des œufs ou des poissons sont interdites dans l'alimentation des bovins ;
- Décembre 1994 : extension de l'interdiction des farines animales, à l'exception des protéines issues des produits laitiers, des ovoproduits, des poissons ou animaux marins, dans l'alimentation de tous les ruminants ;
- Juin 1996 : mise en place d'une sécurisation des farines animales ; retrait des matériels à risque spécifiés (MRS) de la chaîne alimentaire humaine et animale et destruction par incinération ; destruction systématique par incinération des cadavres<sup>[1]</sup> d'animaux de toutes espèces et des saisies sanitaires ; puis en février 1998 traitement thermique intense (133°C, 20 min, 3 bars) des sous-produits dont la taille des particules doit être inférieure à 50 mm pour l'obtention des farines animales de mammifères destinées à l'alimentation des volailles, porcins et poissons ;
- Novembre 2000 : suspension de l'utilisation des farines animales et de certaines graisses dans l'alimentation de toutes les espèces animales dont les produits sont destinés à la consommation humaine.

Le terme réglementaire FVO correspond aujourd'hui aux sous-produits de catégorie 1 (sous-produits pouvant contenir les cadavres, les saisies sanitaires et les matériels à risque spécifiés (MRS), et destinés à l'incinération) et de catégorie 2 (utilisés comme matières fertilisantes et à d'autres usages non alimentaires). Les protéines animales transformées (PAT) sont des matières premières protéiques exclusivement

---

<sup>[1]</sup>Animaux morts avant l'abattoir

produites à partir de sous-produits provenant d'animaux propres à la consommation humaine (sous-produits de catégories 3).

Dans son évaluation de 2009 sur les risques EST liés à l'introduction des PAT dans l'alimentation des non ruminants, à l'exception des poissons (PAT volailles → porcs et PAT porcs → volailles), l'Afssa recommandait le maintien des dispositions en vigueur interdisant l'utilisation des PAT dans l'alimentation des animaux de rente. A ce jour, la situation est inchangée. En effet, l'état des lieux montre une évolution positive vers la réalisation de l'ensemble des garanties préalables à l'utilisation des PAT, mais les conditions pour une utilisation sécurisée ne sont pas réunies.

### *C. Mesures de police sanitaire*

Le dispositif est déclenché lors de l'identification d'un foyer d'infection EST (cas d'un animal sédentaire) et met en œuvre des mesures spécifiques de surveillance ou de gestion dans les troupeaux, que l'on considère dès lors comme troupeaux à risque par rapport à la population générale. Pour les troupeaux de petits ruminants, des mesures différentes sont appliquées en fonction de l'historique du cas (né dans le troupeau ou nomade), de la sensibilité génétique à l'infection des animaux et de la nature de la souche d'EST identifiée.

La Commission en adoptant le règlement CE n°999/2001 a instauré un cadre législatif strict et contraignant. Sur le plan national un règlement en conformité avec le niveau européen a été instauré en 2003 (Arrêté, du 27 janvier 2003). Il existe un consensus européen sur l'importance de ces mesures sanitaires, toutefois la France a fait le choix pratique de les renforcer.

Les détails de la police sanitaire sont fournis en annexe A.

### III. Approches de modélisations mathématiques des EST ovines

Les modèles mathématiques peuvent être descriptifs, prédictifs ou explicatifs et leur utilisation a permis d'acquérir une meilleure compréhension des EST, en particulier de la tremblante. L'objectif de cette partie est de montrer brièvement les thématiques pour lesquelles les modèles ont été des outils précieux à l'étude des EST, l'épidémiologie intra- et intertroupeau, la mise en œuvre de programme de surveillance et l'évaluation de l'efficacité de programme de sélection génétique. Une publication parue en 2010 propose une revue du rôle des différents modèles dans la compréhension des EST ovines (Gubbins, Touzeau et al. 2010).

**Concernant la transmission intra-troupeau de la tremblante :** les modèles présentent 3 objectifs principaux, (i) l'interprétation des données issues d'un foyer de tremblante, (ii) l'étude des différents scénarii de transmission et (iii) l'impact des possibles stratégies visant à contrôler la maladie.

- i. *Analyse des données provenant de foyers de tremblante :* A partir d'un modèle déterministe intégrant des équations différentielles (pour le temps, l'âge et la charge infectieuse) (Stringer, Hunter et al. 1998), Woolhouse et coll. ont analysé les données d'un foyer beaucoup plus important de tremblante naturelle dans un cheptel de race Cheviot (137 cas parmi 1307 individus sur une période de 13 ans). Ce dernier a intégré des paramètres tels que le taux de transmission horizontale, la distribution de la période d'incubation, la sensibilité génétique des différents génotypes, dans un modèle déterministe. Les conclusions indiquent que la transmission est principalement horizontale, la plupart des animaux infectés meurent avant de déclarer les signes cliniques et que la force d'infection est dépendante de l'âge (Woolhouse, Matthews et al. 1999). Un autre modèle s'est attaché à décrire le taux de reproduction de base  $R_0^6$  pour un cheptel ovin de race Romanov à forte incidence de tremblante (Hagenaars, Donnelly et al. 2003). L'intervalle de confiance du paramètre, très large, bien que dans les valeurs usuelles, rend son estimation difficile. Le modèle a révélé toutefois que les animaux infectés devenaient infectieux à un stade précoce de l'incubation. Un modèle déterministe en

---

<sup>6</sup>  $R_0$  (Taux de reproduction basique) : Nombre moyen d'infections secondaires produites à partir d'un individu infecté introduit dans une population d'individus sensibles.

temps discret (Sabatier, Durand et al. 2004) a suggéré que l'importance du foyer dépend de la composition génétique initiale du cheptel, et est principalement liée à la conduite d'élevage. Enfin une approche déterministe pour analyser la transmission de la tremblante pendant la saison d'agnelage au sein d'un troupeau ovin de race Romanov (Touzeau, Chase-Topping et al. 2006) conclue en faveur d'une augmentation de cette transmission (les variations de l'incidence en fonction de la saisonnalité ne sont pas uniquement liées à des changements démographiques).

- ii. *Différents scénarii de transmission de la tremblante* : Un modèle portant sur  $R_0$ , a conclu à une baisse de ce paramètre due à l'augmentation de la fréquence des allèles sensibles (allèles récessifs) et à son augmentation si la conduite de la reproduction se fait en cheptel fermé (perte des allèles récessifs) (Matthews, Woolhouse et al. 1999). Un autre modèle reposant sur des équations différentielles ordinaires a démontré comment la transmission de la tremblante reposait sur quatre éléments clefs ; parmi eux, l'augmentation de l'infectiosité entre le moment de l'infection et l'apparition des signes cliniques. Une approche stochastique a porté sur l'étude de la durée d'une infection à la tremblante au sein d'un foyer en fonction de paramètres sous-jacents comme  $R_0$  ou le temps de génération<sup>7</sup> (Hagenaars, Donnelly et al. 2000; Gubbins and McIntyre 2009). En conclusion, cette durée diminue lorsque la transmission est assurée par une majorité d'individus à un stade avancé de l'infection. Enfin le modèle stochastique à temps discret développé par Sabatier (Sabatier, Durand et al. 2004) s'est attaché à décrire les différents modes épidémiologiques associés à un nouveau foyer (sporadique, endémique, épidémique). Ce modèle concluait que l'importance (en nombre) d'un épisode de tremblante est liée à la composition génétique initiale du cheptel alors que le mode épidémiologique est influencé essentiellement par les pratiques d'élevage.
- iii. *Evaluation des stratégies de contrôle de la tremblante* : Les modèles permettent une étude dans les troupeaux infectés de l'efficacité des mesures de contrôle (Matthews, Woolhouse et al. 1999; Woolhouse, Matthews et al. 1999), comme la réduction des transmissions horizontale et verticale,

---

<sup>7</sup> TG (Temps de génération): temps de doublement de la population infectieuse

l'abattage des individus en phase préclinique et la sélection génétique d'homozygotes résistants.

Les modèles sont pour la plupart explicatifs et assez peu conduisent à une quantification des paramètres de transmission. A l'exception peut-être de ceux portant sur le foyer français ovin de race Romanov (Hagenaars, Donnelly et al. 2003; Touzeau, Chase-Topping et al. 2006). Ils ont apporté des informations incertaines mais néanmoins intéressantes sur l'effet de la saisonnalité, le début de l'infectiosité, et l'estimation d'une période d'incubation moyenne.

**Concernant la transmission de la tremblante entre les troupeaux:** Ces modèles reposent sur la représentation schématique des troupeaux et l'intégration des interactions entre eux. De modèles simples (Gravenor, Papasozomenos et al. 2004; Gubbins, Clark et al. 2006; Hagenaars, Donnelly et al. 2006) où les individus appartiennent à une population homogène à des modèles complexes (Gravenor, Cox et al. 2001; Kao, Gravenor et al. 2001; Gubbins 2005) incluant les paramètres de transmission intra-troupeau dans une population hétérogène, ils présentent une complexité variable reposant sur des compromis. La transmission entre troupeaux repose essentiellement sur deux facteurs : la probabilité d'infection (liée à la proportion de troupeaux infectés) et la durée de l'infection. D'autres modèles proposent une approche différente, comme par exemple le modèle spatio-temporel développé par Durand (Durand, Dubois et al. 2004). L'espace est représenté par une variable unidimensionnelle discrète servant à localiser les troupeaux.

Plusieurs de ces modèles ont cherché à évaluer l'impact des différentes stratégies implémentées, voire l'impact relatif de ces stratégies (abattage, sélection génétique, limitation des mouvements des animaux), plutôt que d'estimer l'impact réel d'une stratégie sur l'occurrence de la tremblante.

**Concernant la surveillance de la tremblante:** En Angleterre, deux modèles simples, tenant compte d'une probabilité de détection de la maladie variable selon le stade d'incubation, ont été développés pour estimer la prévalence de l'infection à l'abattoir, à partir de données issues des abattoirs nationaux. Un premier modèle considère chaque test diagnostique indépendamment (Webb, Wilesmith et al. 2001), alors qu'un second combine l'ensemble des tests dans une seule analyse (Gubbins, Simmons et al. 2003). Plus récemment, toujours en Grande-Bretagne, d'autres

approches (*back-calculation*) intégrant toutes les données de surveillance (surveillance passive à partir des cas cliniques, et surveillance active à l'équarrissage et à l'abattoir) pour l'année 2002 (Gubbins 2008), puis de 1993 à 2007 (Gubbins and McIntyre 2009), ont permis d'affiner les valeurs de prévalence de la tremblante classique et de mettre en évidence la diminution de cette prévalence entre 2003 et 2007. La modélisation a aussi permis, pour une prévalence donnée, d'estimer l'échantillon d'animaux qu'il était nécessaire de tester. Le premier modèle statistique standard de Webb (Webb, Wilesmith et al. 2001), avec les données britanniques à l'abattoir, a ensuite été adapté au cheptel norvégien en intégrant les paramètres génétiques des individus et les données d'équarrissage (Hopp, Webb et al. 2003). Un tel modèle a mis en évidence une prévalence supérieure de la maladie à l'équarrissage, et concluait que moins de 9% des troupeaux infectés étaient détectés à l'abattoir ou à l'équarrissage. Les modèles reposent sur des hypothèses communes : l'infection se produit autour de la naissance, les animaux sont soumis à la même force d'infection, la structure démographique de la population ovine, en particulier la fréquence allélique est inchangée. Mais les approches sont différentes, surtout au niveau des paramètres dont ils tiennent compte. En l'occurrence, la prise en compte du génotype des individus et leur effet sur le risque d'infection, la durée d'incubation ou la probabilité de détection, de la taille de l'échantillon choisi, de la variabilité de la sensibilité des tests rapides, de l'existence de données disponibles sur plusieurs années, peut conduire à une estimation plus fiable de la prévalence.

Les modèles ont aussi joué un rôle prévisionnel. L'hypothèse de l'infection naturelle d'un ovin par une souche ESB, considérée comme impossible en raison de la barrière d'espèce et désormais possible suite à la confirmation d'un cas d'ESB chez une chèvre, a conduit à adresser plusieurs questions sur les conséquences d'une telle hypothèse. Deux questions ont alors surgi, d'une part sur l'ampleur d'une telle épidémie en termes de taille et durée (Ferguson, Ghani et al. 2002; Kao, Gravenor et al. 2002) et d'autre part sur le risque zoonotique pour la santé publique et l'efficacité des mesures de gestion actuelles (Ferguson, Ghani et al. 2002; Fryer, Baylis et al. 2007). Ces modèles conduisent à des résultats très différents. Le manque de données fiables et disponibles génèrent des incertitudes et obligent le modélisateur à poser de nombreuses hypothèses. Ceci amène à la question de la pertinence de telles études. Certes ces études s'appuient sur les données disponibles, et les



résultats sont à prendre avec précaution. Néanmoins, les modèles demeurent des outils d'aide précieux, offrant de nouvelles voies d'étude et aptes souvent à identifier les informations manquantes.

## **PARTIE 2: REVUE DES DONNEES DISPONIBLES SUR L'INFECTIOSITE DES OVINS A LA TREMBLANTE CLASSIQUE**

### **I. Approche qualitative**

#### *A. Origine de la contamination*

Il est aujourd'hui largement admis qu'en conditions naturelles, la contamination par la tremblante classique se produit autour de la naissance. Les autres voies de contamination étant considérées comme faiblement efficaces. La voie orale constitue une voie privilégiée d'infection (Andreoletti, Berthon et al. 2000).

Chez les brebis de génotype sensible naturellement infectées par la tremblante classique, le placenta et le colostrum/lait (deux sources de contamination avérées de l'agneau) peuvent contenir de l'agent infectieux dès la première mise-bas / lactation (Tuo, O'Rourke et al. 2002; Lacroux, Corbière et al. 2007; Lacroux, Simon et al. 2008). En effet des observations fiables confirment que les agneaux nés de brebis en phase d'incubation de la tremblante classique ont un risque plus élevé de développer la maladie (Hoinville 1996). La mesure de PrP anormale par les techniques conventionnelles dans les tissus de fœtus de génotype sensible (VRQ/VRQ) à terme issus de brebis de génotype sensibles (VRQ/VRQ) infectées par la tremblante classique n'a pas permis de mettre en évidence de dépôt de PrP anormale dans un quelconque tissu de ces fœtus. Le suivi de cohortes d'agneaux de génotype sensible issues de mères infectées VRQ/VRQ ou non infectées dans un environnement fortement contaminé, n'a lui pas permis de déceler de différences dans la précocité ou les voies de contamination des agneaux (Andreoletti, Lacroux et al. 2002). Une étude de 2011 (Garza, Fernandez-Borges et al. 2011) relate la présence de PrPres après amplification par PMCA dans les fœtus de brebis en incubation. Cette étude doit être prise avec prudence quant à l'interprétation de ces données compte tenu d'une part des risques très élevés de contamination croisée des échantillons dans le cadre de cette technique d'amplification et d'autre part de la nature des tissus utilisés pour la réalisation des contrôles négatifs (tissus collectés à partir d'un agneau négatif et non de fœtus issus de brebis négatives).

Par ailleurs des contaminations d'ovins adultes par la tremblante classique sont identifiées, suite à l'introduction d'animaux indemnes dans un troupeau atteint (Ryder, Dexter et al. 2004).

Une origine environnementale de la contamination ne peut être écartée. L'introduction d'animaux indemnes dans un environnement infecté, sans contact avec d'autres animaux, a conduit à la transmission de l'infection. Une origine environnementale de la contamination est donc réelle et des mesures adéquates de prévention doivent être mises en œuvre (Dexter, Tongue et al. 2009).

#### *B. Présence de la PrPres et infectiosité à la tremblante classique*

Un groupe d'experts de l'OMS (*Organisation Mondiale de la Santé*) produit et met à jour régulièrement des tables regroupant pour les espèces concernées les informations actualisées sur l'infectiosité et la distribution des protéines prions dans les différents tissus (WHO 2010). Le travail du groupe d'experts OMS s'appuie sur des analyses d'animaux infectés en conditions d'élevage, cas terrains ou expérimentalement infectés sans indiquer les titres infectieux ni le délai d'apparition de l'infectiosité tissu par tissu. La détection d'une protéine prion pathogène (PrPsc) est étroitement corrélée aux titres infectieux dans les différents tissus (Beekes, Baldauf et al. 1996; Andreoletti, Simon et al. 2004). L'infectiosité et la présence de PrPres sont pathognomoniques d'une EST. Seules des études de dissémination à partir d'une infection naturelle ou d'infection expérimentale primaire par voie orale, modèle de contamination privilégié pour mimer l'infection naturelle par le prion chez les ruminants (Tabouret, Lacroux et al. 2010), de la tremblante classique sont incluses (Andreoletti, Berthon et al. 2000; van Keulen, Schreuder et al. 2000). Le tableau 4 reprend les données pour l'espèce ovine et la tremblante classique, extrait du document toute espèce de l'OMS, et présente la distribution tissulaire de l'infectiosité dans certains tissus d'intérêt (EFSA-Q-2010-0052 2010). Sont introduites côte à côte les données de la présence de la PrPsc obtenues par technique d'amplification (PMCA<sup>8</sup>) et de l'infectiosité obtenue par bio-essai sur souris transgéniques. Il est difficile de transmettre une maladie à prions d'une espèce à l'autre, la transmission étant limitée par le phénomène de barrière d'espèce. Les souris, par exemple, ne sont que peu sensibles au matériel infectant issu d'ovins. En revanche, la transgénèse de la protéine prion ovine chez la souris (Tg souris) lui

---

<sup>8</sup> Protein Misfolding Cyclic Amplification

confère une sensibilité accrue aux diverses souches de prion ovines. La mise en évidence de l'accumulation de PrP<sup>res</sup> par la technique de PMCA est à prendre avec précaution compte tenu de la sensibilité élevée de la technique pouvant conduire à la détection de doses sans signification au plan biologique. L'analyse de ces résultats est à aborder de façon spécifique (Saborio, Permanne et al. 2001). En effet un résultat positif par une PMCA expérimentale et un essai sur souris transgénique ne permettent nullement de conclure sur l'existence d'un risque substantielle de transmission de la maladie dans les conditions naturelles. Même si la dissémination de l'agent a bien été documentée par plusieurs auteurs, de telles études demeurent limitées. Le travail du groupe d'experts OMS s'appuie sur des données d'infection naturelle et d'infection expérimentale primaire par voie orale sans indiquer les titres infectieux ni le délai d'apparition de l'infectiosité tissu par tissu. Dans ses travaux sur l'infectiosité des tissus ovins et caprins, l'EFSA reprend et complète ces données.

**TABLEAU 4: TISSUS A HAUTE INFECTIOSITE POUR LA TREMBLANTE CLASSIQUE CHEZ DES OVINS ATTEINTS CLINIQUEMENT**

Tissus	Tremblante classique	
	Infectiosité	PrPsc
<b>Système nerveux central</b>		
Encéphale	+	+
Moelle épinière	+	+
Rétine	NT	+
Nerf optique(a)	NT	+
Ganglion spinal	+	+
Hypophyse	+	+
<b>Système nerveux périphérique</b>		
Nerfs périphériques	+	+
Ganglions autonomes	+	+
<b>Tissus lympho-réticulaires</b>		
Rate	+	+
Nœuds lymphatiques	+	+
Tonsilles palatines	+	+
Thymus	+	+
<b>Tube digestif</b>		
Iléon	+	+
Colon/Caecum	+	+
<b>Appareil reproducteur</b>		
Placenta	+	+
<b>Autres tissus</b>		
Muqueuse nasale (b)	+	+

+: PRESENCE D'INFECTIOSITE OU PRPSC ; NT: NON TESTE ; (A) LE NERF OPTIQUE EST IDENTIFIE COMME VOIE NERVEUSE DE DISSEMINATION ET CONTIENT UN TITRE INFECTIEUX ELEVE D'APRES LES MODELES EXPERIMENTAUX. (B) LIMITEE A LA REGION SENSORIELLE OLFACTIVE. EXTRAIT DE (EFSA-Q-2010-0052 2010)

### C. Dynamique de la tremblante classique : les études sur la pathogénèse

Les données relatives à la dynamique de dissémination de la tremblante classique chez des individus infectés naturellement sont issues principalement

d'individus de génotype VRQ/VRQ, élevés dans deux troupeaux différents (Pays-Bas et Langlade en France). Le peu de données disponibles pour les autres génotypes rend toute interprétation difficile. Des animaux porteurs du génotype ARQ/VRQ (hétérozygotes issus du même troupeau français que les homozygotes sensibles) ont mis en évidence une diffusion similaire, avec toutefois, une cinétique d'accumulation de la PrPsc plus lente. La prise en compte d'individus VRQ/VRQ doit être interprétée comme le pire scénario. L'annexe B regroupe les données de prévalence des allèles du gène PRNP pour les principales races ovines. Ces données sont issues d'une communication orale et datent de 2007. L'allèle VRQ était en fréquence très faible dans la plupart des races ovines françaises avant sélection sur le gène PRNP. Il est d'autant plus rare après sélection.

La plupart des études de pathogénèse s'appuie sur l'immunohistochimie (IHC). Il s'agit d'une technique fiable tant du point de vue de la sensibilité, que de la description des structures impliquées dans l'accumulation de PrPsc. Cependant la méthode reste qualitative et sujette à variations.

**TABLEAU 5: REVUE DES ETUDES DECRIVANT L'ACCUMULATION ET LA LOCALISATION DE PRPRES ET DE L'INFECTIOSITE POUR LA TREMBLANTE CLASSIQUE CHEZ LES OVINS**

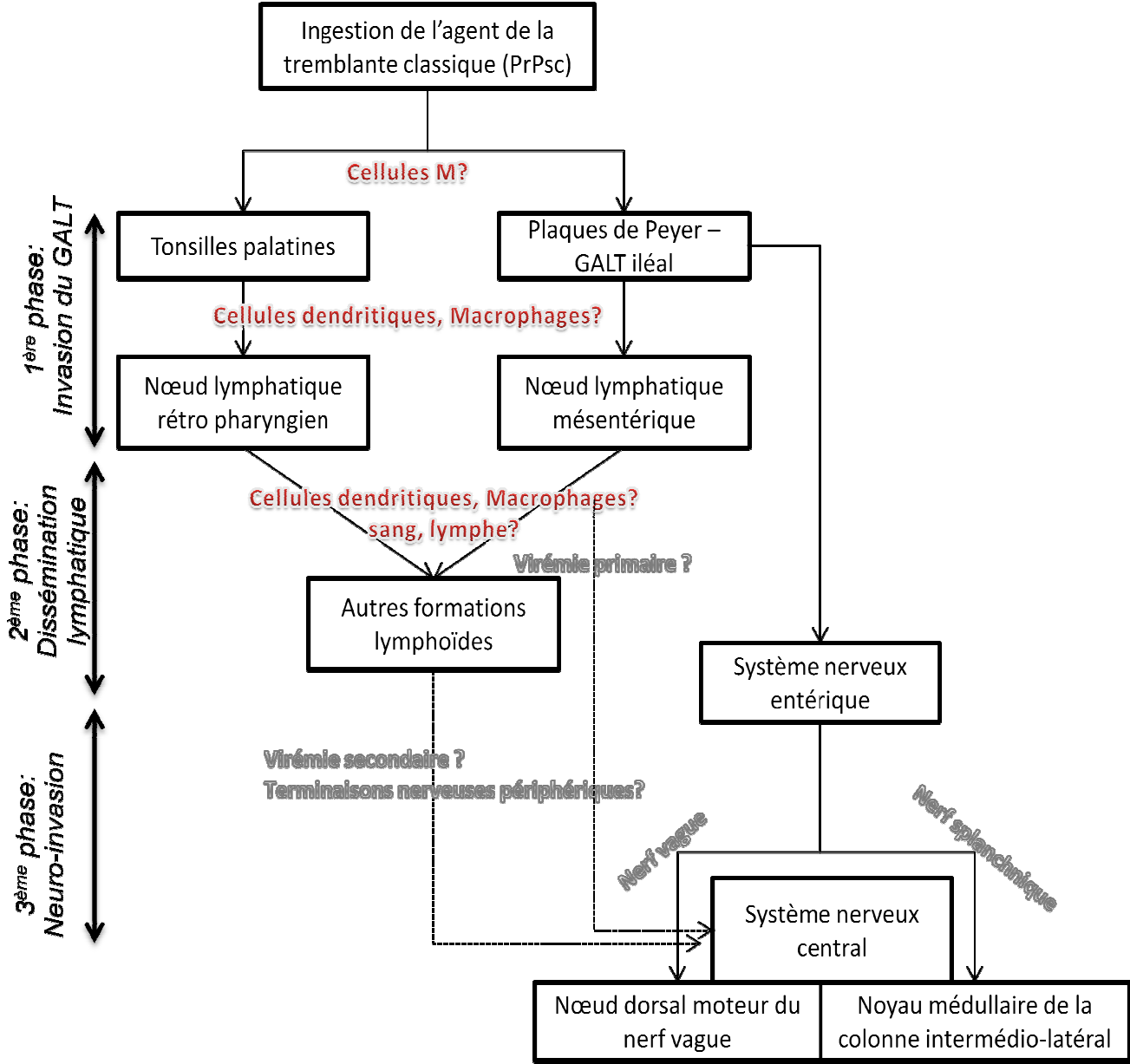
Auteur(s)	Etude	Protocole	Méthodes et Analyses	Conclusion
(Andreoletti, Lacroux et al. 2002)	Mode de transmission de PrPsc de brebis naturellement infectées par la tremblante classique à leurs progénitures ( <i>in utero</i> ou <i>post-partum</i> )	<u>Hypothèse de contamination PrPsc in utero</u> : 2 groupes de brebis PrPsc+ (VRQ/VRQ), IA par béliers (VRQ/VRQ ou ARR/ARR). Control négatif brebis PrPsc-(VRQ/VRQ) x béliers (ARR/ARR).	Prélèvements sur tissus de brebis et agneaux (de 140j post IA à 4 mois d'âge) puis analysés par IHC et Elisa pour la détection de PrPsc.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Présence de PrPsc dans les cotylédons durant l'incubation.</li> <li>Absence apparente de PrPsc dans les placentas de brebis porteuses d'agneaux ARR : dissémination moindre de l'agent.</li> <li>En fin de gestation, pas de PrPsc apparent chez les fœtus VRQ/VRQ issus de brebis (VRQ/VRQ) présentant un dépôt de PrPsc dans le placenta.</li> </ul>
		<u>Effet de la présence de PrPsc dans le placenta sur l'infection fœtale</u> : Agneaux VRQ/VRQ issus de brebis PrPsc- (ARR/VRQ) et brebis PrPsc+ (VRQ/VRQ), IA par béliers (VRQ/VRQ). Control négatif : Agneaux ARR/VRQ issus de brebis PrPsc+ (VRQ/VRQ) x béliers (ARR/ARR).	Echantillons de 23 tissus différents prélevés sur agneaux à la naissance (avant succion), 10, 21, 64, 104 et 144j puis analysés par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Présence de la PrPsc détectée de façon identique dans les 2 groupes : en faveur d'une contamination <i>post-partum</i>.</li> <li>Détection de la PrPsc à 21 jours dans les plaques de Peyer en portion iléale : GALT iléal possible porte d'entrée initiale.</li> <li>A 104 jours, dans les 2 groupes, dissémination de PrPsc à l'ensemble des formations GALT et formations lymphoïdes secondaires.</li> </ul>
(Andreoletti, Berthon et al. 2000)	Cinétique d'accumulation PrPsc entre 2 et 9 mois sur moutons infectés naturellement par la tremblante classique	Etude portant sur 52 moutons issus d'un programme d'accouplement génétique au sein du troupeau Langlade, les animaux de race Romanov ont été classés dans 3 groupes selon 3 génotypes i) Haute sensibilité (VRQ/VRQ) ; ii) sensibilité intermédiaire (VRQ/ARR) et iii) résistant (ARR/ARR). Control positif sur individus VRQ/ARR de 5 ans et VRQ/VRQ de 18 mois cliniquement atteints. Control négatif sur individus ARR/ARR sains entre 3 et 7 ans.	Prélèvements de tissus lymphoïdes, nerveux et digestifs entre 2 et 9 mois puis analyses par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>A 2 mois, PrPsc + dans les plaques de Peyer iléales et dans le NL mésentérique.</li> <li>Entre 3 et 6 mois, PrPsc + dans l'ensemble du GALT, les tonsilles palatines, les NL mandibulaire et rétro-pharyngien, et dans une moindre mesure la rate et le NL médiastinal. La quantité croît pour atteindre un plateau à 6 mois.</li> <li>A 9 mois, tous les organes lymphoïdes secondaires présentent un signal équivalent. Apparition d'un signal dans le plexus d'Auerbach et le noyau du nerf vague.</li> </ul>
(van Keulen, Vromans et al. 2002)	Pathogénèse précoce et tardive de la tremblante classique naturelle	<u>Phase précoce</u> : agneaux entre 1 et 5 mois (VRQ/VRQ) <u>Phase tardive</u> : individus entre 5 et 21 mois (VRQ/VRQ) Contrôles négatifs : Animaux (VRQ/ARR et ARR/ARR) abattus à 3 et 6 mois (phase précoce) et 14 et 26 mois (phase tardive)	Prélèvements à 1, 2, 3, 4, 5 mois (phase précoce) et 5, 10, 14, 17, 21 mois (phase tardive). Analyse par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>A 2mois, PrPsc + dans GALT des tonsilles palatines, et plaques de Peyer des portions jéjunale et iléale, ainsi que les NL drainant ces régions.</li> <li>A 5 mois, dissémination à l'ensemble du GALT et autres formations lymphoïdes, et détection dans le système nerveux entérique.</li> <li>A 10 mois, PrPsc + dans le système nerveux central (encéphale, moelle épinière). Neuro-invasion rétrograde par les fibres parasympathiques et sympathiques innervant les intestins.</li> </ul>
(Jeffrey, Martin et al. 2001)	Accumulation de PrPsc dans un troupeau atteint naturellement de tremblante classique.	Biopsies de tonsilles palatines (simple ou multiple) entre 3 et 26 mois et/ou nécropsies entre 4 et 84 mois sur individus de race Suffolk sensibles (AQ/AQ) et résistants (AR/AR). Les tissus de contrôle sont obtenus sur des individus non infectés (VQ/AQ et VQ/VQ).	Prélèvements SLR, tractus digestif, SNP, yeux, placenta puis analysés par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chez les individus (AQ/AQ) cliniquement atteints, PrPsc largement présentes dans les tissus du SNC.</li> <li>Biopsies de tonsilles PrPsc – (AR/AR et AR/AQ) à 3, 8, 14, 20, 26 mois et PrPsc + (AQ/AQ) à 8 et 20 mois.</li> <li>L'accumulation de la PrP dans le SNC présente une cinétique exponentielle.</li> </ul>

(Andreoletti, Simon et al. 2004)	Accumulation de PrPsc dans les muscles	Contamination naturelle par voie orale d'individus (VRQ/VRQ) du troupeau Langlade. Euthanasie à 13.5, 22 et 24 mois. Intracérébrale inoculation de PrP sur agneaux nouveau-nés (12h) ARQ/ARQ et euthanasie à l'apparition des signes cliniques. Comparaison avec ARR/ARR de 20 mois, exposés à la tremblante et utilisés comme contrôles négatifs.	Prélèvements tissus musculaires, lymphoïdes et SNC et détection de PrPsc par Elisa, PET blot, IHC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PrPsc + dans les fuseaux neuromusculaires à 13.5 (incubation) et 24 mois (clinique), nerfs sciatiques aussi infectés : détection de la PrPsc dans les muscles entre 10 et 13 mois après l'infection.</li> <li>• Quantité de prions dans les muscles de l'ordre de 1/5000ème la quantité découverte dans un encéphale d'ovins en phase clinique.</li> </ul>
		Contamination orale à forte dose (5g) à la naissance, pour mimer des conditions de forte pression d'infection, d'individus VRQ/VRQ et ARR/ARR, euthanasiés à 18, 30, 90, 180 et 365 jours post exposition.		
(Everest, Ramsay et al. 2011)	Détection et localisation de PrPres dans le foie d'ovins atteints de la tremblante classique	Etude sur 9 ovins VRQ/VRQ âgées de 20 à 30 mois, dont 7 présentent des signes cliniques.	Echantillons de foie analysés par IDEXX Herdcheck et Bio-Rad EIA puis confirmation par Western Blot. Localisation par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PrPsc + dans 8 foies sur 9 aux stades préclinique et clinique.</li> <li>• Localisation de PrPres dans les cellules de Küppfer.</li> <li>• L'accumulation de PrPres dans le foie résulterait de l'exposition directe aux PrPres du sang.</li> </ul>
(Konold, Moore et al. 2008)	Evidence du rôle du lait dans la transmission du prion chez les individus sensibles.	Alimentation de 18 agneaux Cheviot (VRQ/VRQ) avec du lait de 12 brebis (VRQ/VRQ) en incubation de tremblante classique et 15 brebis (VRQ/VRQ) non atteints de tremblante classique (contrôles négatifs). Euthanasie de 3 individus à 43, 44 et 105 jours. Contrôle négatif sur contamination environnementale réalisé à partir de 10 agneaux VRQ/VRQ du même troupeau.	Prélèvements des formations lymphoïdes de la muqueuse recto-anale sur agneaux de 5 à 7 mois. Détection de PrPres par IHC.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Détection de PrPres chez 2 agneaux en partie distale de l'iléon (muqueuse rectale). Le lait de brebis, dont les signes cliniques sont apparus pendant la lactation, est considéré comme source de l'infection.</li> </ul>
(Lacroux, Simon et al. 2008)	Présence du prion dans le lait de brebis en incubation de la tremblante classique	Etude sur brebis Romanov atteintes de tremblante classique, de génotype ARQ/VRQ et VRQ/VRQ. Prélèvement de colostrum (12h post-agnelage) et lait (20jours post-agnelage). Contrôle négatif avec lait de brebis (VRQ /VRQ) non infectées. Distribution de PrP chez les individus issus de l'IA de brebis (ARQ/VRQ) avec bélier VRQ/VRQ. Constitution de 3 groupes d'agneaux (VRQ/VRQ et 2xVRQ/ARQ). Euthanasie des agneaux à l'âge de 4, 7, 10, 13 et 20 mois (VRQ/VRQ et ARQ/VRQ) et après apparition des signes cliniques à 32 mois (ARQ/VRQ).	Détection de la PrPsc par IHC et PrPres par PET blot. Mesure de l'infectiosité par bio-essais sur souris Tg 338.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Détection de PrP anormale dans les canaux lactifères et acini mammaires (seulement chez les brebis hébergeant des follicules lymphoïdes mammaires ectopiques consécutifs à une infection au lentivirus Maedi.</li> <li>• Présence d'infectiosité dans le colostrum et le lait de brebis en phase d'incubation (jusqu'à plusieurs mois avant l'apparition des signes cliniques).</li> </ul>

IA : INSEMINATION ARTIFICIELLE ; IHC : IMMUNOHISTOCHEMIE ; GALT : GUT ASSOCIATED LYMPHOID TISSUS ; SLR : SYSTEME LYMPHO-RETICULAIRE ; SNP : SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE ;

SNC : SYSTEME NERVEUX CENTRAL ;

La figure 4 présente la succession des événements associés à la dissémination de la protéine pathogène de la tremblante classique chez des individus sensibles de génotype VRQ/VRQ. Le tableau 6 compile les données liées aux différentes expériences citées ci-dessus, à la fois concernant la présence de la PrPres et la durée durant laquelle la protéine y est détectable.



**FIGURE 4: REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA PATHOGENESE DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE NATURELLE (VAN KEULEN, VROMANS ET AL. 2002) POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.**



**TABLEAU 6: INFECTIOSITE ET PRPSC ASSOCIES A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ**

Tissus	Tremblante classique	
	Infectiosité	PrP <sup>Sc</sup>
<b>Ovins (VRQ/VRQ)</b>		
<b>Système nerveux central</b>		
Cerveau (obex)	+	+ (>7 m- <10m)
Moelle épinière	+	+ (>7 m- <10m)
<b>Système nerveux périphérique</b>		
Nerf vague	+	+ (>10m-<13m)
Nerf brachial	+	+ (>10m-<13m)
<b>Tissus lymphoïdes</b>		
Tonsilles palatines	+	+ (>21j-<64j)
Nœuds lymphatiques de la tête (Mandibulaire et parotidien)	+	+ (>21j-<64j)
Nœud lymphatique médiastinal	+	+ (>64j-<104j)
Nœud lymphatique mésentérique	+	+ (>10j-<21j)
Nœud lymphatiques pré scapulaire	+	+ (>64j-<90j)
Nœud lymphatique pré crural	+	+ (>64j-<90j)
Rate	+	+ (>64j-<104j)
<b>Intestin</b>		
Duodénum	+	+ (>2m - <3m)
Jéjunum	+	+ (>2m - <3m)
Iléon	+	+ (>10j - <21j)
Cæcum	+	+ (>2m - <3m)
<b>divers</b>		
Lait	+ (1 <sup>ère</sup> lactation)	-
Colostrum	+ (1 <sup>ère</sup> lactation)	-
Muscle squelettique	+ (<13m)	+ (>10m - <13m)
Sang	+ (<3m)	-
Rein	+	-

+ : INFECTIEUX/PRESENCE PRPSC ; - ABSENCE DE PRPSC ; M=MOIS ; J=JOURS. EXTRAIT DE (EFSA-Q-2010-00052 2010)

## II. Charge infectieuse dans les tissus des ovins

L'agent responsable des EST est une protéine prion de conformation anormale. Lors d'infections naturelles, l'accumulation de la protéine pathogène PrP<sup>Sc</sup>

dans les tissus infectés est corrélée au niveau d'infectiosité (McKinley, Bolton et al. 1983). Bien que d'autres méthodes aient été développées depuis, le titrage de l'infectiosité par bio-essais demeure l'outil le plus fiable de quantification de la PrP naturelle dans les tissus. En effet, compte tenu de la sensibilité des méthodes biochimiques de détection de la PrP<sup>sc</sup> pathogène, l'absence de signal ne signifie pas l'absence d'infectiosité dans un tissu. Ces méthodes alternatives sont prometteuses, comme par exemple la PMCA<sup>9</sup> (Saborio, Permanne et al. 2001; Castilla, Saá et al. 2006), mais nécessite tant du point de vue de la robustesse que de la reproductibilité, des améliorations avant d'être utilisées de façon fiable pour quantifier la protéine prion dans les tissus et les fluides.

#### A. *Quantification de la charge infectieuse par bio-essai*

Historiquement les données relatives à la charge infectieuse dans les tissus d'ovins naturellement infectés par la tremblante classique s'appuient sur les résultats des études menées par Hadlow (Hadlow 1982).

L'étude se base sur 2 groupes de moutons de race Suffolk,

- ✓ ≤25 mois : Jeunes animaux, asymptomatiques, incluant des jeunes agneaux,
- ✓ ≥34 - ≤57 mois : Animaux atteints de la tremblante classique (confirmés cliniquement et neuro-histologiquement),

dont divers tissus ont été inoculés intracérébralement à des souris C57B16 âgées de 21 à 23 jours. Les bio-essais d'inoculation intracérébrale sont réalisés pour chaque tissu sur 10 souris. Les valeurs de titrage infectieux sont exprimées en MICLD50<sup>10</sup>/30mg de tissu, c'est-à-dire en unité infectieuse dans un tissu nécessaire pour tuer 50% des souris C57B16. Bien que cette étude représente encore aujourd'hui une référence dans le domaine, à l'époque, le gène PRNP et l'impact du polymorphisme des allèles sur la pathogénèse de la tremblante classique, n'étaient pas connus. Du coup le génotype des animaux utilisés pour l'expérience n'a pas été établi. Rétrospectivement, tenant compte des caractéristiques de la race Suffolk, il semblerait que les animaux de l'étude soient de génotype AA (sur le codon 136) et QQ (sur le codon 171) (Westaway, Zuliani et al. 1994), leur conférant une susceptibilité moyenne.

---

<sup>9</sup> PMCA: *Protein Misfolding Cyclic Amplification*

<sup>10</sup> MICLD : *Mouse intra-cerebral lethal dose 50%*

## Phase préclinique :

**TABLEAU 7: DISTRIBUTION QUANTITATIVE\* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NON NERVEUX D'OVINS ASYMPTOMATIQUES PORTEURS DE L'ALLELE VRQ.**

#	Sexe	Age, mois	Tonsilles palatines	NL retro-pharyngien	NL mésentérique	NL pré-scapulaire	NL pré-fémoral	Rate	Iléon	Colon proximal
1	M	10	ND	2.8	1.0	ND	ND	ND	ND	ND
2	M	11	ND	2.3	ND	ND	ND	1.0	ND	ND
3	M	11	ND	ND	1.1	0.8	ND	1.3	1.7	ND
4	F	13	ND	1.5	1.2	0.9	ND	0.8	ND	ND
5	M	12	2.3	3.1	1.1	ND	0.6	ND	ND	2.5
6	M	14	0.6	1.8	2.3	ND	ND	2.1	2.5	1.8
7	M	10	1.8	2.8	3.3	0.9	1.8	1.7	3.0	3.3
8	F	11	2.3	3.6	3.6	2.0	2.2	4.0	3.7	3.6
9	F	25	3.2	3.7	3.7	3.0	1.7	2.8	3.8	3.6

M : MALE ; F : FEMELLE ; ND : VIRUS NON DETECTE ; \* EN LOGMICLD50/30MG DE TISSU. NL : NŒUDS LYMPHATIQUES.

MODIFIE DE (HADLOW 1982)

L'infectiosité a été détectée chez 8 agneaux (10-14 mois) sur 15 (6 mâles, 2 femelles). Aux âges concernés, seuls les tissus lymphoïdes et l'intestin sont concernés. Plus particulièrement, au niveau des nœuds lymphatiques rétro-pharyngien et mésentérique ainsi que de la rate, de l'infectiosité a été invariablement trouvée. Sur 3 animaux de 25 mois, une seule femelle présente de l'infectiosité. Le tableau 7 montre une large distribution tissulaire. Non représentée ici, la distribution atteint même le système nerveux central, même si la répartition topographique reste limitée, la concentration faible et les lésions neurohistologiques inexistantes (Valeurs exprimées en logMICLD50/30mg de *medulla oblongata* =2,3 ; de diencephale =0,7).

## Phase clinique :

Les tableaux 8 et 9 présentent les neufs animaux présentant des signes cliniques évidents de la tremblante classique. Sur le plan neurohistopathologique, tous les animaux présentaient les lésions dégénératives pathognomoniques de la tremblante. D'après le tableau 8, l'infectiosité est présente dans l'intestin et très largement dans les tissus lymphoïdes. D'un animal à l'autre les valeurs quantitatives varient peu. Le tableau 9 montre des valeurs d'infectiosité supérieures à celles vues pour les tissus non nerveux. Les valeurs les plus hautes sont obtenues pour l'encéphale (diencephale et mésencéphale), l'obex et le cortex cérébelleux.

**TABLEAU 8: DISTRIBUTION QUANTITATIVE\* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NON NERVEUX D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ AU STADE CLINIQUE.**

#	Sexe	Age, mois	Stade clinique	Tonsilles palatines	NL retro-pharyngien	NL broncho-médiastinal	NL mésentérique	NL pré-scapulaire	NL pré-fémoral	Rate	Iléon	Colon proximal	Colon distal	Glandes surrénales	Muqueuse nasale
1	M	36	SP	2.1	2.8	2.6	3.1	ND	2.5	2.3	3.3	2.9	ND	0.8	ND
2	Mc	37	SP	3.8	2.5	3.3	3.3	3.0	3.0	3.8	2.6	3.7	0.6	1.6	ND
3	F	34	SP	ND	1.4	2.3	3.2	1.6	ND	2.4	2.8	2.0	1.5	ND	ND
4	F	38	SP	3.8	2.6	3.1	3.0	3.5	3.5	3.5	2.9	3.0	1.3	1.4	0.8
5	F	34	SP	3.8	2.8	3.1	2.5	2.6	2.5	3.4	3.3	3.0	ND	1.3	1.9
6	F	57	SA	2.7	2.8	2.4	3.5	2.9	2.7	3.0	3.7	3.4	1.9	2.4	1.2
7	F	36	SA	2.9	3.3	3.0	2.9	ND	3.3	3.5	3.4	1.6	1.7	ND	ND
8	F	46	SA	1.7	2.5	3.2	3.5	2.5	2.0	1.5	3.5	3.3	1.7	0.7	ND
9	F	37	SA	2.9	2.7	3.9	4.0	2.9	2.8	3.4	3.3	3.8	1.3	2.5	ND

M : MALE ; F : FEMELLE ; MC : MALE CASTRE ; SP : STADE PRECOCE ; SA : STADE AVANCE ; ND : VIRUS NON DETECTE ; \* EN LOGMICLD50/30MG DE TISSU. MODIFIE DE (HADLOW 1982)

**TABLEAU 9: DISTRIBUTION QUANTITATIVE\* DE L'INFECTIOSITE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE DANS LES TISSUS NERVEUX D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ AU STADE CLINIQUE.**

#	Sexe	Age, mois	Stade clinique	Cortex cérébral	Striatum	Diencephale (encéphale)	Mésencéphale (encéphale)	**Bulbe rachidien (obex)	Cortex cérébelleux	Moelle épinière cervicale	Nerf sciatique	Hypophyse	LCS
1	M	36	SP	1.0	1.1	3.8	3.1	4.3	3.5	2.9	0.6	ND	ND
2	Mc	37	SP	4.5	3.1	5.3	5.8	4.0	6.1	4.0	1.5	1.6	0.4
3	F	34	SP	4.3	3.5	5.1	5.7	4.4	6.5	4.5	2.5	ND	0.8
4	F	38	SP	1.8	2.5	3.7	4.4	4.3	3.8	4.1	1.9	ND	2.2
5	F	34	SP	0.8	1.6	3.8	3.9	3.7	3.7	2.7	0.6	1.0	ND
6	F	57	SA	5.1	4.6	5.7	5.7	5.6	6.5	5.5	2.0	0.8	0.8
7	F	36	SA	1.1	3.1	4.0	3.1	3.7	1.5	2.4	ND	1.5	ND
8	F	46	SA	2.1	3.8	4.8	5.3	4.7	5.0	4.6	2.2	ND	ND
9	F	37	SA	5.0	NT	NT	5.9*	NT	5.8	4.5	2.5	1.8	ND

M : MALE ; F : FEMELLE ; MC : MALE CASTRE ; SP : STADE PRECOCE ; SA : STADE AVANCE ; ND : VIRUS NON DETECTE ; NT : NON TESTE ; \* EN LOGMICLD50/30MG DE TISSU ; \*\*BULBE RACHIDIEN OU MEDULLA OBLONGATA OU OBEX ; # : POOL DE STRIATUM, ENCEPHALE ET OBEX. MODIFIE DE (HADLOW 1982)

Les charges infectieuses par groupe tissulaire sont exprimées en moyenne arithmétique, tel que présenté dans la publication de la commission européenne de 2002 intitulée « *Update of the opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissues* » (European Commission 2002). Dans les tableaux précédents les valeurs s'exprimaient pour 30mg de tissu. Dans le tableau 10, les titres infectieux sont exprimés en logMICLD50 par gramme de tissu infecté.

**TABLEAU 10: TITRES INFECTIEUX LOGMICLD50/G DE TISSUS EXTRAITS D'OVINS PORTEURS DU GENOTYPE VRQ ET CLINIQUEMENT ATTEINTS PAR LA TREMBLANTE CLASSIQUE**

Groupe tissulaire**	Nomenclature des tissus (Hadlow)	Titre infectieux Log MICLD50/g de tissu		Nombre d'échantillons
		Moyenne arithmétique	écart-type de la moyenne	
<b>SNC</b>				
Cerveau	cortex cérébral	5.6	± 0.2	51
	striatum			
	diencéphale			
	mésencéphale			
	Bulbe rachidien			
	cortex cérébelleux			
Moelle épinière	partie cervicale	5.4	± 0.3	9
<b>SNP</b>				
	Nerf sciatique	3.1	± 0.3	9
<b>Tissus lymphoïdes</b>				
	Tonsilles palatines	4.2	± 0.4	9
Nœuds lymphatiques	rétro-pharyngien <sup>1</sup>	4.2	± 0.1	45
	Bronchio-médiastinal <sup>2</sup>			
	Mésentériques <sup>2</sup>			
	pré-scapulaire <sup>3</sup>			
	pré-fémoral <sup>3</sup>			
	Thymus	2.2	± 0.2	9
	Rate	4.5	± 0.3	9
<b>Intestins</b>				
	Colon proximal	4.5	± 0.2	9
	Colon distal	<2.7	± 0.2	9
	Iléon	4.7	± 0.1	9
<b>Autres</b>				
	Muscle squelettique	<2.0		9

SNC : SYSTEME NERVEUX CENTRAL ; SNP : SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE ; LES DONNEES SOULIGNEES INDIQUENT LES VALEURS MODIFIEES PAR RAPPORT A L'AVIS DE L'EFSa ; 1 : FORMATIONS LYMPHOÏDES DE LA TETE ; 2 : FORMATIONS LYMPHOÏDES CAVITES ABDOMINALES ET THORACIQUES ; 3 : FORMATIONS LYMPHOÏDES DES MEMBRES. \*\*NOMENCLATURE DES TISSUS TELS QUE PRESENTEE DANS L'ETUDE EFSa.

## B. Informations issues de méthodes alternatives

L'approche de quantification de la charge infectieuse par bio-essais sur souris présentant certaines limites, en particulier au niveau temporel, d'autres alternatives ont été considérées.

### a) Infectiosité relative des tissus

Dans son avis de 2007, l'agence européenne de sécurité des aliments (EFSA) indiquait :

*“While absolute quantification of prions by biochemical methods is difficult, and the experiments needed to correlate their outputs to bioassay titres costly and time-consuming, measurements of abnormal PrP in two tissues of the same animal may be compared as a first approach to an assessment of the ratio of infectivity in each tissue, and their intrinsic relative risk following exposure to humans. - (EFSA-Q-2005-235 2007)”*

La méthode repose sur une approche comparative entre les tissus. La quantification de la PrP dans deux tissus x et y d'un même animal permet de conclure au ratio de PrP dans x par rapport à y (ou vice et versa) et par extrapolation à une infectiosité relative entre les tissus x et y. L'emploi d'essais biochimiques à partir de moutons VRQ /VRQ (troupeau Langlade) infectés naturellement et expérimentalement (voie orale), permettent d'établir la dynamique de l'infection et la quantité de PrP<sup>Sc</sup> dans différents tissus (Annexe IV-B of (EFSA-Q-2007-202 2008)). Les résultats biochimiques indiquent que :

- L'accumulation de PrP<sup>Sc</sup> dans le tissu lymphoïde et l'obex est exponentielle ;
- L'accumulation de PrP<sup>Sc</sup> dans les tissus lymphoïdes atteint un plateau chez les animaux de plus de 6 mois.

En ce qui concerne l'infectiosité relative :

- Le plateau atteint par les tissus lymphoïdes équivaut entre 1/100 à 1/10 de la quantité de PrP<sup>Sc</sup> accumulées dans l'obex d'un mouton en phase terminale
- Les rares échantillons positifs de muscle squelettique d'ovins infectés en phase préclinique ou clinique contiennent entre 1/5000 et 1/2500 de la quantité de PrP<sup>Sc</sup> accumulées dans l'obex d'un animal en phase terminale.

Comme indiqué précédemment de tels résultats peuvent être extrapolés en termes d'infectiosité relative.

### ***b) Période d'incubation***

Une autre approche pour estimer le niveau d'infectiosité d'un tissu consiste à comparer la durée d'incubation par bio-essais entre un homogénat de l'échantillon d'intérêt et la courbe étalon d'un titrage d'homogénat d'encéphale utilisée comme référence (pour une même souche) (Prusiner, Cochran et al. 1982). A partir des mêmes résultats biochimiques utilisés précédemment, les résultats indiquent pour le nœud mésentérique iléal :

- A 1 mois, l'équivalent de 1/1000 ;
- A 3 mois, l'équivalent de 1/200 ;
- A 6 mois et en phase terminale de la maladie l'équivalent de 1/20 ;

de l'infectiosité observée dans l'obex d'un mouton en phase terminale.

Les résultats sont du même ordre que ceux obtenus préalablement pour l'infectiosité relative. En ce qui concerne le muscle squelettique, il existe une grande hétérogénéité dans la distribution du prion (localisé majoritairement dans les fuseaux musculaires). Le panel BIOHAZ de l'EFSA considère que l'infectiosité dans le muscle reste en dessous de 1/2500<sup>ème</sup> de l'infectiosité trouvée dans l'obex d'un animal en phase terminale.

## ***C. Intégration des données et évolution de la charge infectieuse avec l'âge***

### ***a) Estimation du poids des tissus d'ovins en fonction de l'âge (Tableau 11)***

Les ovins présentent une très grande diversité morphologique due intrinsèquement à l'âge, la race, le sexe et extrinsèquement aux modes d'élevages (sevrage, abattage, alimentation...). Par ailleurs, pour certains organes, les caractéristiques physiques vont varier en fonction de l'âge. Par exemple, le poids des plaques de Peyer au niveau de l'iléon atteint son maximum à 6 mois, et diminue au-delà. De la même manière, le thymus croît puis entame une involution progressive à partir de 6 mois. Le tableau 11 est extrait du document d'infectiosité (EFSA-Q-2010-0052 2010). Il est construit sur la base d'approximations et d'hypothèses faites par le comité d'experts BIOHAZ. D'autres valeurs sont obtenues à partir des publications scientifiques (plaques de Peyer, muscle squelettique). Dans le modèle développé par

l'EFSA, pour une catégorie d'âge donnée, le poids est compris dans un intervalle [valeur basse ; valeur haute]. Pour notre étude, à la borne supérieure de la catégorie d'âge correspond la valeur haute du poids. A 2 mois les masses correspondent aux valeurs basses de la catégorie d'âge « <3 mois » du tableau de l'EFSA. Les masses des organes pour 2, 11 et 13 mois, non présentes dans le tableau d'origine, ont été extrapolées à partir des informations disponibles pour les autres âges. A l'exception des organes impliqués dès 6 mois, et des muscles dont la croissance se poursuit au-delà de 12 mois, les autres organes atteignent leur masse adulte à 12 mois.

MOIS	0M	2M	3M	6M	10M	12M	13M	21M	30M
Cerveau	0	80	100	150	200	200	200	200	200
Moelle épinière	0	30	60	75	100	100	100	100	100
Système nerveux périphérique	0	25	50	50	70	80	80	80	80
Tonsilles palatines	0	1	3	6	40	60	60	60	60
Formations lymphoïdes de la tête	0	14	27	54	60	60	60	60	60
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	0	15	50	150	150	150	150	150	150
Thymus	0	20	80	80	60	50	45	20	15
Rate	0	50	100	300	300	300	300	300	300
Formations lymphoïdes des membres	0	20	50	60	60	60	60	60	60
GALT iléal	0	60	150	150	100	80	60	20	15
GALT autres	0	5	20	20	20	20	20	20	20
Muscle squelettique	0	2000	3500	10000	14000	15000	16000	20000	20000

**TABLEAU 11: ESTIMATION MAXIMALE DU POIDS(G) DES TISSUS D'OVINS EN FONCTION DE L'AGE.**

*A PARTIR DU TABLEAU GENERAL DE L'INFECTIOSITE DANS LES TISSUS DE PETITS RUMINANTS (ANNEXE C).*

### ***b) Récapitulatif des connaissances et hypothèses concernant la quantification de l'infectiosité***

La représentation de l'évolution continue de la charge infectieuse des tissus d'intérêt en fonction de l'âge passe par une série d'hypothèses qu'il convient de lister afin de faciliter la compréhension du modèle. Ces hypothèses sont les suivantes :

- Le modèle retiendra uniquement une contamination orale des individus autour de la naissance.
- La neuroinvasion se produit autour de la moitié du temps d'incubation. D'après les données de l'EFSA, cela se situe autour de 6 mois. La cinétique de l'accumulation dans le système nerveux central est exponentielle. De façon arbitraire la valeur de l'infectiosité dans le système nerveux central est



plafonnée à 8 logMICLD50. Tout d'abord cette valeur tient compte d'un écart en log d'environ 2 entre les organes lymphoïdes et le système nerveux central au stade clinique. D'autre part, au-delà de 8log, la manifestation de signes cliniques est quasi certaine et serait suivie d'une saisie de la carcasse lors de l'inspection par les services vétérinaires en abattoir.

- Les formations lymphoïdes de la tête se répartissent entre les tonsilles (palatine et nasopharyngienne), la troisième paupière et les nœuds lymphatiques : rétropharyngiens latéraux, parotidiens et la chaîne mandibulaire. Dès 2 mois, la PrP est détectée dans les tonsilles et les NL rétropharyngiens. Les autres formations lymphoïdes de la tête sont infectées à partir de 3 mois.
- Les yeux sont constitués de la rétine (tissu nerveux) et de la troisième paupière (tissu lymphoïde). Les yeux, et donc l'infectiosité associée, sont retirés très précocement en tant que MRS.
- Lors du retrait du crâne, au même âge que les yeux, d'autres organes lymphoïdes potentiellement infectieux sont retirés (en particulier les nœuds lymphatiques rétropharyngiens et parotidiens).
- A dire d'experts, le retrait des matériels à risque spécifiés (yeux et crâne) équivaut à retirer environ 50% de l'infectiosité des formations lymphoïdes de la tête.
- Les formations lymphoïdes des cavités abdominales et thoraciques sont représentées par les nœuds lymphatiques broncho-médiastinaux et mésentériques. La PrPsc y est détectable dès 2 mois mais leur contribution en termes d'infectiosité est maximale à partir de 6 mois.
- Le thymus atteint sa taille maximale entre 3 et 6 mois, avant d'entamer une involution au cours des mois suivants. Son infectiosité est comparable à celle d'un organe de réplication secondaire, tels les nœuds lymphatiques thoraciques et abdominaux. L'infectiosité atteint donc 100% autour de 6 mois, et non 3 mois comme mentionné dans le tableau de l'EFSA.
- La rate atteint sa taille adulte autour de 6 mois. Dès 2 mois, une infectiosité est présente dans l'organe.
- Le GALT associé à l'iléon régresse à partir de 6 mois (contrairement aux autres formations GALT). Le GALT associé au colon (proximal ou distal) ne

régresse pas. Alors que les plaques de Peyer constituent chez l'agneau de moins de 6 mois un centre lymphoïde majeur, celles-ci diminuent fortement au-delà. Dans les formations lymphoïdes des membres (par exemple les nœuds lymphatiques poplités), l'accumulation de la PrPsc débute autour de 3 mois pour atteindre un plateau à partir de 6 mois.

- L'ensemble des formations lymphoïdes atteignent un plateau autour de 6 mois. Ce plateau équivaut entre 1/100 et 1/10 de l'infectiosité présente dans l'obex d'un animal atteint cliniquement.
- L'invasion dans le système nerveux périphérique (SNP) est centrifuge depuis le SNC. L'infectiosité est détectée dans le SNP durant la 3<sup>ème</sup> phase d'invasion, entre 10 et 12 mois (Figure 4). L'atteinte du SNP débute à 12 mois selon notre modèle.
- L'invasion des muscles se produit aussi à partir du SNC. L'étude de Lacroux et coll. (2010), reprise par l'EFSA dans son avis de la même année, indiquait que l'infectiosité dans le muscle squelettique peut être équivalente à 1/20 de celle trouvée dans l'obex d'un individu cliniquement atteint. Quant au panel BIOHAZ de l'EFSA, il conclut qu'une infectiosité, si elle est présente dans le muscle, ne peut dépasser 1/2500 de celle trouvée dans l'obex d'un animal atteint cliniquement. L'apparition de l'infectiosité est la plus tardive et débute dans notre modèle à 13 mois. L'infectiosité des muscles se répartit au niveau des faisceaux et fibres musculaires.
- L'âge d'apparition des signes cliniques pour des ovins sensibles porteurs de l'allèle VRQ se situe entre 18 et 24 mois. Pour notre modèle cet âge est fixé à 21 mois.
- Après l'apparition des signes cliniques, les animaux ont une survie de quelques mois. Un âge limite est fixé à 30 mois dans le modèle.

### ***c) Infectiosité des organes***

Dans l'étude d'Hadlow, les données sont exprimées pour 30 mg de tissus et sont converties en gramme. Il s'agit à présent de convertir cette donnée par organe et par âge. Pour se faire nous compileront les résultats obtenus en termes d'infectiosité avec les informations connues : i) estimation du poids de chaque organe en fonction de l'âge (Tableau 11), ii) âge d'initiation de l'infectiosité dans un organe et iii) évolution de l'infectiosité au sein d'un organe avec le temps. Pour ce

dernier point, la méthode employée par l'EFSA a été reprise. La charge infectieuse est considérée proportionnellement à la charge infectieuse en phase clinique. Les valeurs considérées dans l'étude correspondent aux estimations hautes de l'EFSA. Les tableaux détaillant les calculs sont présentés dans l'annexe C. L'évolution de la charge infectieuse reprend donc, selon les organes, les variations associées à une croissance exponentielle (SNC) ou un plateau (tissus lymphoïdes) comme décrit précédemment. Par ailleurs cette évolution tient compte des modifications de masse de l'organe avec l'âge. Le tableau 12 est extrait de l'annexe C et offre une synthèse des données qui seront utilisées dans notre modèle. La charge infectieuse est exprimée en logMICLD50 par organe infecté (par conséquent tient compte de la masse de l'organe). Il propose par la même occasion une correspondance entre les tissus décrits dans l'étude EFSA et les tissus infectieux considérés comme matériels à risque spécifiés (MRS) retirés lors de l'application des mesures de retrait, détaillées en première partie et reprise ultérieurement.

	MOIS	0M	2M	3M	6M	10M	12M	13M	21M	30M
<b>Cerveau</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	5,4	7,9	8,0
<b>Moelle épinière</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	5,0	7,4	8,0
<b>Système nerveux périphérique</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	3,4	5,0
<b>Tonsilles palatines</b>		0,0	0,4	2,6	5,0	5,8	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Formations lymphoïdes de la tête</b>		0,0	1,9	3,5	5,9	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques</b>		0,0	1,4	2,7	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
<b>Thymus</b>		0,0	1,2	2,3	4,1	4,0	3,9	3,9	3,5	3,4
<b>Rate</b>		0,0	0,0	3,3	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
<b>Formations lymphoïdes des membres</b>		0,0	0,0	1,9	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>GALT iléal</b>		0,0	2,7	5,0	6,9	6,7	6,6	6,5	6,0	5,9
<b>GALT autres</b>		0,0	1,0	2,7	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Muscle squelettique</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	6,4

**TABLEAU 12:** EVOLUTION PAR TISSU DE LA CHARGE INFECTIEUSE EN LOGMICLD50 EN FONCTION DE L'AGE (OPTION MAXIMALE) POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ (A PARTIR DU TABLEAU GENERAL DE L'ANNEXE C).

### III. Conclusions sur l'infectiosité des tissus et hypothèses considérées.

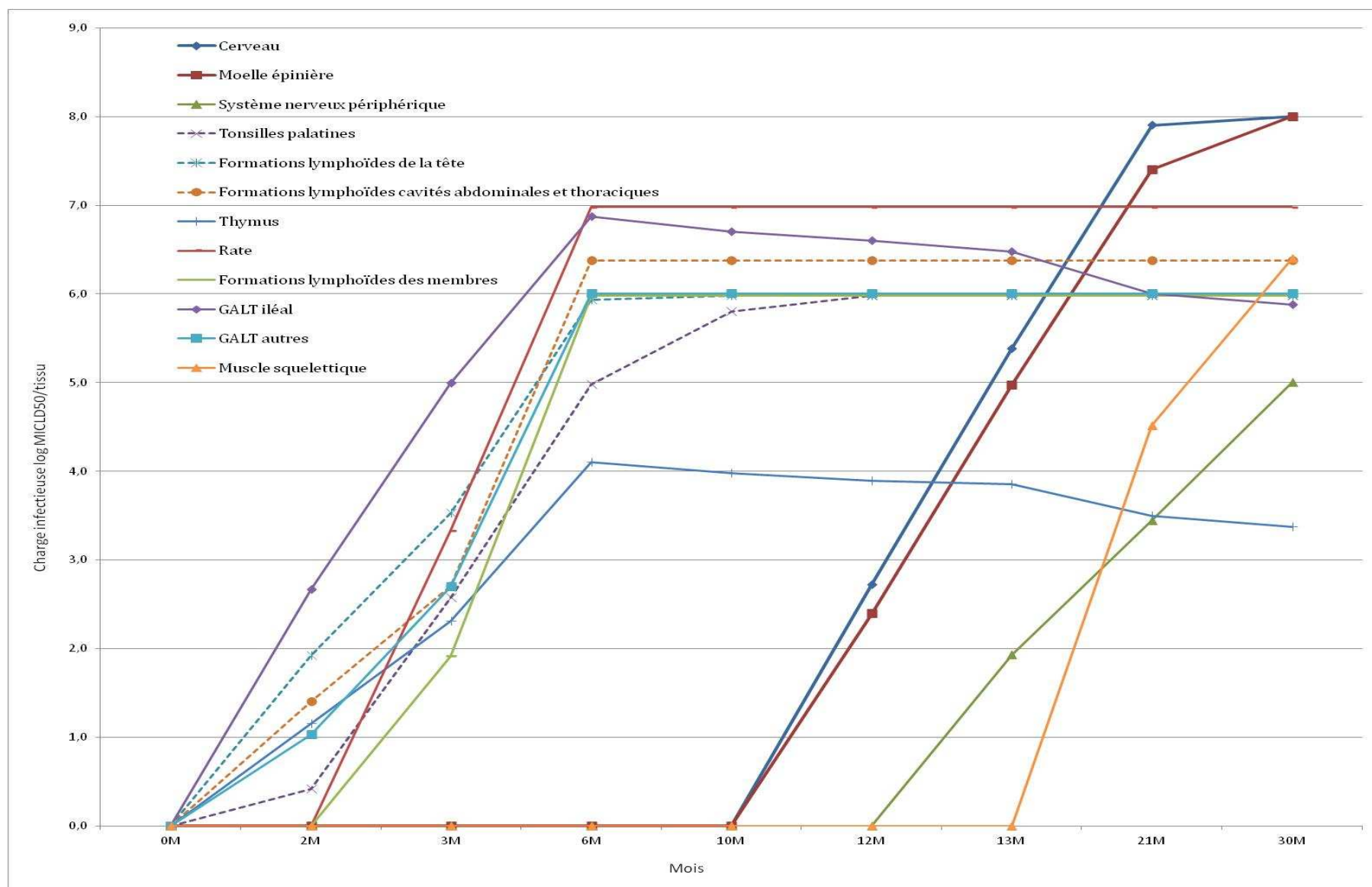
#### A. Option maximale (Figure 5)

Les résultats présentés précédemment correspondent aux valeurs maximales pour le poids des tissus et la charge infectieuse. Les hypothèses considérées sont les suivantes :

- La contamination des individus se produit autour de la naissance.
- Les titres infectieux sont ceux trouvés chez des individus de génotype sensible à la tremblante classique, porteurs de l'allèle VRQ.
- Seuls les individus nés, élevés et abattus en France sont considérés.
- Les tonsilles constituent un site de réplication primaire et l'infectiosité y est détectable dès 2 mois.
- Le retrait des yeux et du crâne en tant que MRS entraînent le retrait de 50% de l'infectiosité associée aux formations lymphoïdes de la tête.
- La neuroinvasion du SNC se produit à 50% de la durée d'incubation (environ 10 mois). L'infectiosité croît ensuite de façon continue et exponentielle (arbitrairement plafonnée à 8 logMICLD50).
- Les formations lymphoïdes constituent un site primaire de réplication et l'infectiosité y est présente dès 2 mois. L'accumulation a une forme exponentielle et atteint un plateau vers de 6 mois.
- En termes d'infectiosité, la contribution du thymus est maximale à 6 mois (comparable aux tissus lymphoïdes thoraciques et abdominaux) puis diminue sensiblement avec l'involution de l'organe.
- La contribution de la rate en termes d'infectiosité atteint son maximum autour de 6 mois et se maintient au-delà.
- Parmi les autres tissus lymphoïdes (au niveau des membres et GALT), tous atteignent le maximum d'infectiosité autour de 6 mois. Par la suite, seul le GALT iléal entame une involution au-delà de 6 mois.
- Les tissus de réplication secondaire connaissent une invasion centrifuge à partir du SNC. Une infectiosité est détectable dans le SNP à partir de 10 mois, et 13 mois pour le tissu musculaire.
- L'âge d'apparition des signes cliniques pour les individus sensibles porteurs de l'allèle VRQ est fixé à 21 mois.
- L'âge de la mort pour les individus porteurs de l'allèle VRQ et déclarant des signes

cliniques à 21 mois est fixé à 30 mois.

- Le poids de chaque organe correspond aux valeurs maximales de l'EFSA. Les masses non disponibles dans le tableau source sont extrapolées à partir des informations présentes.
- Les contributions infectieuses pour chaque organe par catégorie d'âge correspondent aux valeurs hautes fournies par l'EFSA.



**FIGURE 5: EVOLUTION EN FONCTION DE L'AGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE POUR LES DIFFERENTS TISSUS INFECTES D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ**

*B. Option minimale : test de sensibilité du modèle*

Afin d'évaluer la sensibilité du modèle, nous proposons d'évaluer le modèle à partir des valeurs inférieures de l'infectiosité et des valeurs basses des masses des organes (EFSA-Q-2010-0052 2010). Les autres hypothèses sont identiques à celles présentées ci-dessus. Les données et résultats détaillés sont présentés dans les annexe D.

## PARTIE 3: APPROCHE QUANTITATIVE ET COMPARATIVE PAR MODELISATION

### I. Infectiosité totale de la carcasse

#### A. Répartition des tonnages selon l'âge d'abattage

Compte tenu de la variation de l'infectiosité dans le temps, l'âge d'abattage est un paramètre important à intégrer. Les données précises concernant les volumes d'abattage par catégorie d'âge des ovins en France sont rares. Avec l'aide des informations communiquées sur le site d'Agreste<sup>11</sup>, nous sommes amenés à considérer plusieurs hypothèses (Tableau 13).

**TABLEAU 13: SCENARIOS D'ABATTAGE DES OVINS EN % DU TONNAGE PAR CATEGORIE D'AGE**

Age	Hypothèses d'abattage			
	1	2	3	4
< 1 M	5%	5%	5%	1%
1 – 3 M	25%	30%	35%	40%
3 – 6 M	35%	45%	50%	50%
6 – 12 M	15%	10%	5%	7%
12 – 18 M	10%	5%	3%	1%
> 18 M	10%	5%	3%	1%

La majorité des abattages concerne les animaux de moins de 6 mois. Par conséquent, quelque soit l'hypothèse, la tranche 1-6 mois représente le plus fort pourcentage. Les agneaux de moins de 1 mois correspondent aux agneaux de lait (abattus à 5 semaines environ). Les broutards correspondent aux agneaux entre 6 et 12 mois qui ont connu les pâturages. Le mouton, animal castré, est abattu entre 12 et 18 mois. Après 18 mois, il s'agit des animaux de réformes (brebis et béliers).

Les données précise étant difficilement trouvables et les âges d'abattage souvent approximatifs, différents scénarii d'abattage sont considérés (Tableau 13). Le scénario 1 suggère la plus large répartition des volumes d'abattage. Sur la base des

<sup>11</sup> <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>: La statistique, l'évaluation et la prospective agricole



informations transmises dans le rapport de l'EFSA, l'hypothèse 2 semble la plus correcte. De ce fait elle est choisie par la suite pour l'application du modèle. Enfin les scénarios 3 et 4 proposent des volumes réduits pour les abattages à des âges extrêmes, et un volume augmenté pour la tranche d'âge principale (1-6 mois). Chaque hypothèse d'abattage permet de pondérer la contribution de chaque catégorie d'âge en termes d'infectiosité. Cela nous amène à introduire un paramètre nouveau, la carcasse moyenne.

### B. Infectiosité totale de la carcasse

La carcasse moyenne est une représentation mathématique de l'ensemble des carcasses entrant à l'abattoir. Elle est une moyenne des volumes d'abattage pour chaque catégorie d'âge. L'infectiosité totale  $TI_0$  d'une carcasse moyenne pour des animaux porteurs de l'allèle VRQ provenant d'un troupeau infecté, et susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire, est calculée à partir de la formule suivante:

$$TI_0 = p_v \times \left( \sum CI_i \times w_i \right)$$

Eq. 1

Avec:

- $p_v$  : Prévalence vraie de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.
- $CI_i$  est la charge infectieuse probable d'une carcasse correspondant à un animal d'âge  $i$  ( $i=1$  à  $6$ , soit respectivement à 1 M, 1 - 3 M, 3 - 6 M, 6 - 12 M, 12-18 M et 18M – 30M).
- $w_i$  le pourcentage d'abattage associé à chaque catégorie d'âge (Tableau 13).

Les  $CI_i$  sont calculés à partir des données du tableau 12.

$$CI_i = \int_{ai}^{bi} \left( \sum_j TI_j(x) \right) f(x) dx$$

Eq. 2

Avec:

- $TI_j(x)$  : Infectiosité totale associée au tissu  $j$  en fonction de l'âge.
  - o Avec  $TI_j(x) = \beta_j \cdot \exp(x)$

où  $\beta_j$  est une constante pour le tissu  $j$ .

- $x$  est l'âge d'abattage de l'animal
- $f(x)$  est la probabilité de distribution de l'âge entre les deux bornes  $a_i$  et  $b_i$  d'une catégorie d'âge donnée. En l'absence de données précises, cette distribution est supposée uniforme.

L'intégrale introduite dans l'équation 2 reflète l'évolution de l'infectiosité entre la borne supérieure et la borne inférieure d'une tranche d'âge. Pour le calcul de l'intégrale entre deux âges, la charge infectieuse est exprimée sous forme de valeurs discrètes journalières.

Selon la définition présentée ci-dessus, la charge infectieuse totale est un indicateur de l'infectiosité portée par une carcasse moyenne issue d'un animal infecté et entrant potentiellement à l'abattoir.

### *C. Dispositif de surveillance et mesures de réduction de l'infectiosité des carcasses*

Cette partie constitue un simple rappel des dispositions de surveillance et des mesures précédemment détaillées dans la première partie du rapport.

#### **a) Dépistage de la tremblante classique**

La surveillance active des EST chez les petits ruminants est en place depuis 2002, conformément à la réglementation européenne. Un échantillon de petits ruminants âgés de plus de 18 mois est testé à l'abattoir et à l'équarrissage.

#### **b) Mesures de gestion pour les EST ovines**

Les mesures appliquées sont de deux grands types : le retrait des matériels à risque spécifiés (MRS) et l'application de mesures de police sanitaire. Comparées aux mesures européennes, les mesures françaises sont différentes pour i) l'âge de retrait des MRS, ii) l'éradication de la maladie dans les troupeaux infectés et iii) le devenir des produits issus de troupeaux infectés.

En termes de santé publique, le retrait des matériels à risque spécifiés est la mesure la plus importante pour la protection du consommateur.

La police sanitaire, avec les mesures qui en découlent, est déclenchée suite à l'identification d'un cas de tremblante classique dans un troupeau. Par exemple, un animal infecté et identifié sera détruit. La police sanitaire s'applique au troupeau

d'origine. Au niveau européen, un test rapide sur obex est réalisé sur chaque animal de plus de 18 mois provenant de ce troupeau. Un résultat négatif est la seule condition pour autoriser l'entrée dans la chaîne alimentaire après retrait de la liste des MRS européens. En France, les animaux du troupeau sont génotypés et les animaux de plus de 3 mois porteurs d'allèles sensibles sont détruits. Pour ceux entrant la chaîne alimentaire la liste de retrait des MRS est renforcée (MRS France+).

#### *D. Prévalence intra-troupeau et hypothèses additionnelles*

La prévalence des cas secondaires dans un troupeau infecté a été documentée par le passé au Royaume-Uni (Tongue, Webb et al. 2005); selon la structure génétique et la taille du troupeau affecté par la tremblante classique, le temps écoulé depuis l'infection du troupeau et les effets de certaines pratiques d'élevage (Corbiere, Barillet et al. 2007), cette prévalence varie significativement. En 2007, l'Afssa estimait la prévalence des cas secondaires au sein d'un troupeau infecté entre 1 et 30% en France (Afssa-1 2007). Un article dans le *Veterinary Journal* relate la prévalence au sein d'un troupeau infecté où un abattage (dans le cadre de la police sanitaire) est effectué dans le cadre de la surveillance active entre 2002 et 2007. Elle est mesurée en tenant compte de la variabilité intrinsèque à un troupeau, c'est à dire l'âge et la race des individus, la taille du troupeau, la génétique, etc. La prévalence intra-troupeau apparente de la tremblante classique en France est estimée à 3.67% avec un intervalle de confiance binomial de [3.47-3.89] (Fediaevsky, Gasqui et al. 2010).

A noter que la probabilité de détecter un troupeau infecté est d'autant plus élevée que la prévalence est forte. Dans notre modèle qui met en parallèle des troupeaux infectés détectés, et d'autres non détectés, la prévalence est sans doute différente. En l'absence de données concernant cette différence nous avons considéré ces prévalences identiques.

Concernant la prévalence de la maladie à l'abattoir pour les animaux issus d'un troupeau infecté, elle est considérée identique à celle trouvée dans les troupeaux infectés ; le présent modèle considère qu'aucun biais de sélection n'intervient entre la production et l'abattoir.

## II. Différents scénarios de réduction de l'infectiosité

Les figures 6 à 8 décrivent les différents scénarios utilisés ultérieurement pour estimer les réductions relatives de l'infectiosité. Ces scénarios sont les suivants :

- Scénario 0: Aucune mesure de gestion n'est appliquée. En conséquence la totalité de l'infectiosité présente sur une carcasse moyenne issue d'un troupeau infecté va entrer dans la chaîne alimentaire.

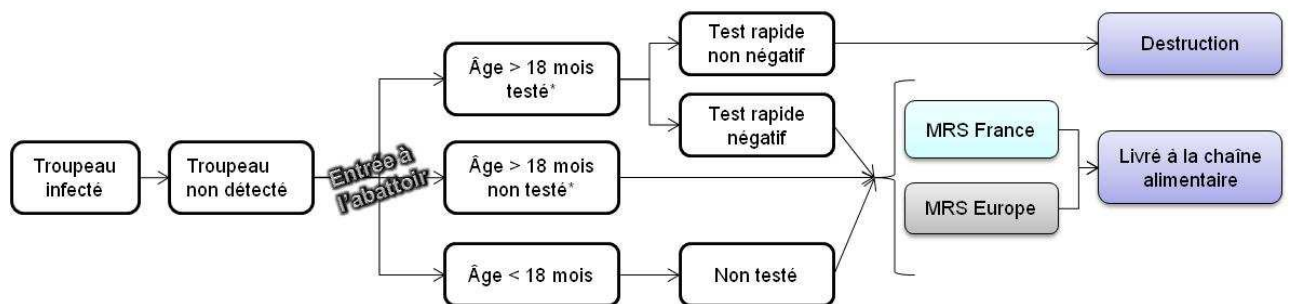


**FIGURE 6: SCENARIO 0 "AUCUNE INTERVENTION"**

L'infectiosité totale correspond à  $TI_0$  dans l'équation 1.

Les deux scénarios suivants introduisent deux cas, suivant que le troupeau infecté est détecté ou non détecté. Pour chaque scénario, les mesures françaises et européennes sont introduites.

- Scénario 1: Les animaux proviennent de troupeaux infectés NON DETECTES.



**FIGURE 7: SCENARIO 1 "CAS D'UN TROUPEAU INFECTE NON DETECTE"**

L'infectiosité associée à une carcasse moyenne pour un individu provenant d'un troupeau infecté mais non détecté est calculée comme suit :

Suite à l'application des mesures européennes:

$$TI_{1EU} = p_v \times \left( \sum_{age < 18M} CI_{iEU} \times w_i \right) + p_a \times FE \times (1 - Se) \times \left( \sum_{age \geq 18M} CI_{iEU} \times w_i \right)$$

Eq. 3

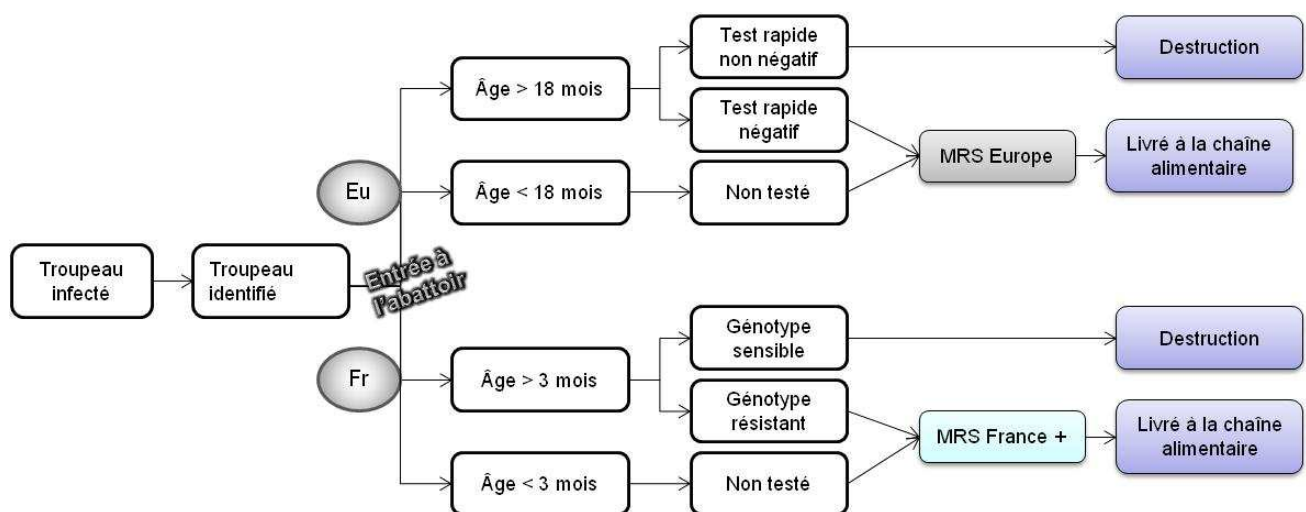
Suite à l'application des mesures françaises:

$$TI_{1FR} = p_v \times \left( \sum_{age < 18M} CI_{iFR} \times w_i \right) + p_a \times FE \times (1 - Se) \times \left( \sum_{age \geq 18M} CI_{iFR} \times w_i \right)$$

Eq. 4

Avec:

- $TI_{1EU}, TI_{1FR}$ : Infectiosité totale pour le scénario 1 en Europe et en France.
  - $p_v$ : Prévalence vraie de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.
  - $p_a$ : Prévalence apparente de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.
  - FE: est la fraction d'échantillonnage au sein de la population d'animaux âgés de plus de 18 mois. Son estimation est de 3%.
  - Se est la sensibilité du test individuel. La sensibilité du test diagnostique sur obex est fixée à 50%. Il est bien connu que cette sensibilité est variable selon l'âge de l'individu. Toutefois pour ce modèle plutôt déterministe, la sensibilité est considérée indépendante de l'âge. Par conséquent la prévalence vraie  $p_v$  équivaut à deux fois la prévalence apparente  $p_a$ .
- Scénario 2: Les animaux proviennent de troupeaux infectés DETECTES.



**FIGURE 8: SCENARIO 2 "CAS D'UN TROUPEAU INFECTE DETECTE"**

L'infectiosité d'une carcasse moyenne pour un individu provenant d'un troupeau infecté et détecté est calculée de la façon suivante:

Suite à l'application des mesures européennes:

$$TI_{2EU} = p_v \times \left( \sum_{age < 18M} CI_{iEU} \times w_i \right) + p_a \times 1 \times (1 - se) \times \left( \sum_{age \geq 18M} CI_{iEU} \times w_i \right)$$

Eq. 5

Avec:

- $TI_{2EU}, TI_{2FR}$ : Infectiosité totale pour le scénario 2 en Europe et en France.
- $p_v$ : Prévalence vraie de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.
- $p_a$ : Prévalence apparente de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.

A la différence du scénario 1, la fraction d'échantillonnage est fixée à 1 (FE=1). Tous les individus âgés de plus de 18 mois vont être testés.

Suite à l'application des mesures françaises:

$$TI_{2FR} = p_v \times \left( \sum_{age < 3M} CI_{iFR+} \times w_i \right) + p' \times \left( \sum_{age \geq 3M} CI_{iFR+} \times w_i \right)$$

Eq. 6

Avec:

- $p_v$ : Prévalence vraie de la tremblante classique pour les animaux abattus issus d'un troupeau infecté.
- $p'$ : Prévalence de la tremblante classique pour les animaux de plus de 3 mois issus d'un troupeau infecté. Cette prévalence dépend de la proportion des individus sensibles et résistants et de leurs prévalences comme le montre l'équation 7 :

$$p' = (\pi s \times ps) + (\pi r \times pr)$$

Eq. 7

Avec

- $\pi_s$  (respectivement,  $\pi_r$ ) : la proportion d'individus sensibles (respectivement résistants) chez les animaux de plus de 3 mois entrant à l'abattoir.
- $p_s$  (respectivement,  $p_r$ ) : la prévalence de la tremblante classique chez les individus sensibles (respectivement résistants) de plus de 3 mois entrant à l'abattoir.

La proportion  $\pi_s$  des individus entrant la chaîne alimentaire est nulle puisque, suite au génotypage, ces individus sont éliminés du troupeau ( $\pi_s = 0$ ). De la même manière, compte tenu de l'invasion tardive du SNC et de la faible réplication en périphérie, la prévalence de la tremblante classique chez les individus résistants est considérée nulle ( $p_r = 0$ ). En conséquence, la seconde partie de l'équation est négligeable. Seuls les animaux de moins de 3 mois sont susceptibles de faire entrer de l'infectiosité dans la chaîne alimentaire.

#### A. Réduction relative de l'infectiosité (RRI)

L'objectif est d'estimer la réduction de l'infectiosité sur une "carcasse moyenne" issue d'un troupeau infecté, et susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire. Les scénarios décrits précédemment tiennent compte de la réduction induite par l'application des mesures de gestion pour la France et l'Europe. Le scénario 1 (cas d'un troupeau infecté non détecté), puis le scénario 2 (cas d'un troupeau infecté détecté), sont comparés successivement, au scénario 0. Ce dernier reflète, en l'absence de mesures de gestion, l'infectiosité totale portée par la carcasse d'un animal infecté issu d'un troupeau infecté qui entrerait dans la chaîne alimentaire.

#### RRI pour le scénario 1:

$$\text{- Europe :} \quad RRI_{1-0} = 1 - \frac{TI_{1EU}}{TI_0}$$

Eq. 8

Et,

$$\text{- France :} \quad RRI_{1-0} = 1 - \frac{TI_{1FR}}{TI_0}$$

Eq. 9

RRI pour le scénario 2:

$$- \text{ Europe : } \quad RRI_{2-0} = 1 - \frac{TI_{2EU}}{TI_0}$$

Eq. 10

Et,

$$- \text{ France : } \quad RRI_{2-0} = 1 - \frac{TI_{2FR}}{TI_0}$$

Eq. 11

Ces paramètres décrivent l'impact des mesures françaises ou européennes lorsqu'elles sont appliquées à un troupeau atteint de tremblante classique. Encore faut-il que ce statut soit connu. D'où la nécessité d'introduire un nouveau paramètre faisant le lien avec la surveillance.

#### *B. Réduction globale de l'infectiosité (RGI)*

La réduction relative de l'infectiosité RRI tend à comparer respectivement l'impact des mesures françaises et des mesures européennes au scénario 0 où aucune intervention ne réduit l'infectiosité sur une carcasse moyenne entrant dans la chaîne alimentaire. Ici, nous allons introduire un nouveau paramètre : la réduction globale de l'infectiosité (RGI). RGI représente au niveau national la réduction globale de l'infectiosité à laquelle on peut s'attendre en tenant compte du niveau de surveillance mis en place. Cette surveillance reflète la probabilité de détecter un troupeau infecté et reflète en quelque sorte le compromis entre les scénarios 1 et 2.

Réduction globale de l'infectiosité :

$$RGI_{Eu} = 1 - \frac{(1 - SSS) \times TI_{1EU} + SSS \times TI_{2EU}}{TI_0}$$

Eq. 12

$$RGI_{Fr} = 1 - \frac{(1 - SSS) \times TI_{1Fr} + SSS \times TI_{2Fr}}{TI_0}$$

Eq. 13



SSS correspond à la sensibilité du système de surveillance. Instaurée au niveau communautaire, et bien qu'elle présente quelques différences entre les états membres, elle est supposée constante dans cette étude.

Le critère de comparaison des mesures de gestion entre l'Europe et la France est le rapport des équations 12 et 13.

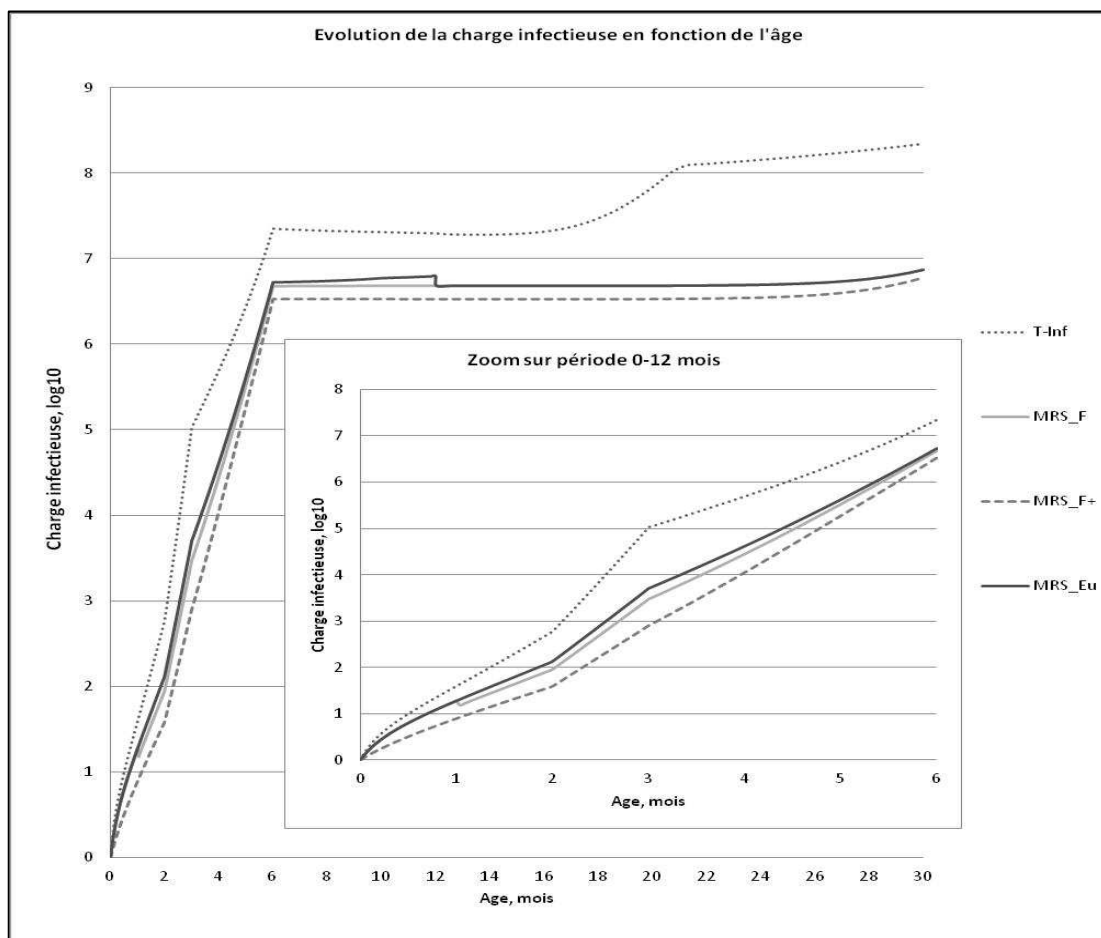
$$RGI_{\frac{FR}{Eu}} = 1 - \frac{(1 - SSS) \times TI_{1FR} + SSS \times TI_{2FR}}{(1 - SSS) \times TI_{1EU} + SSS \times TI_{2EU}}$$

Eq. 14

## PARTIE 4: RESULTATS

### I. Evolution de la charge infectieuse

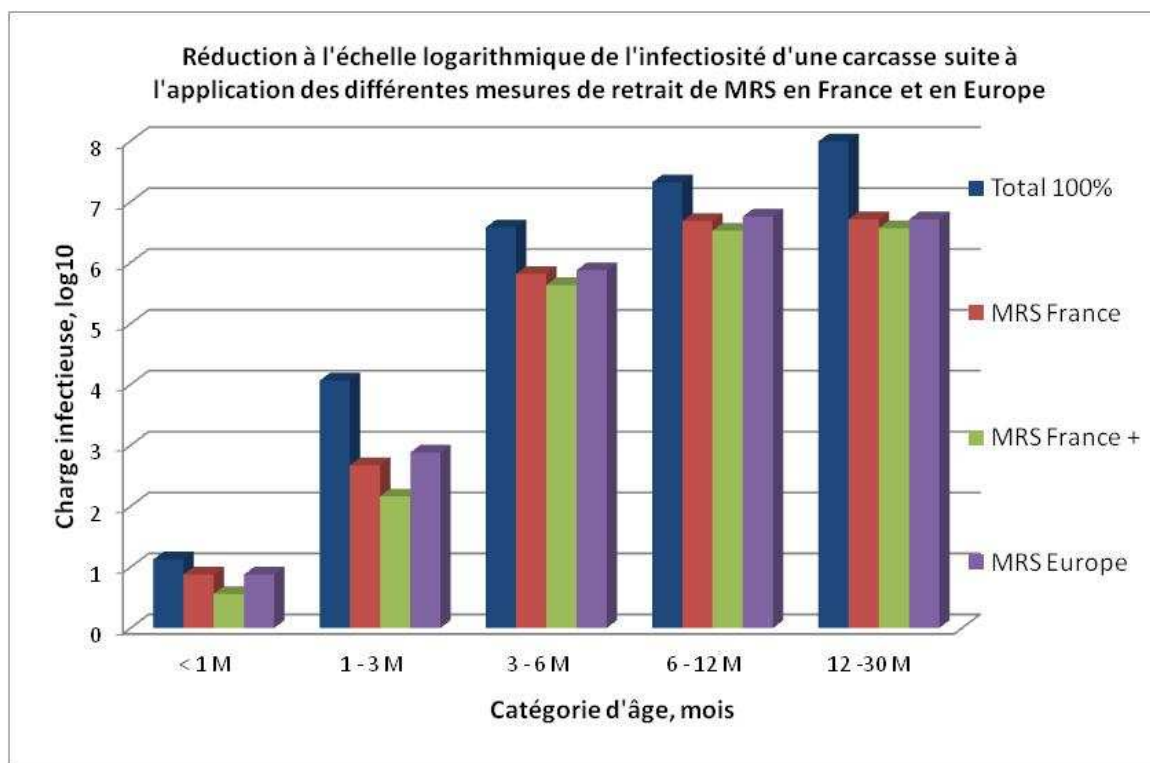
La figure 9 montre l'évolution de l'infectiosité d'une carcasse, exprimée en échelle  $\log_{10}$  MICLD50, en fonction de l'âge. La courbe d'infectiosité totale "T-inf" est représentée avant l'application de mesures de gestion (ligne en points sur la figure 9) et après l'application des mesures de retrait françaises des MRS pour un animal infecté non détecté (MRS\_F) et pour un animal infecté détecté (MRS\_F+, mesures de police sanitaire), et européenne (MRS\_Eu). Quelque soit la mesure de retrait de MRS appliquée, elle se traduit visuellement par une diminution significative de l'infectiosité totale. La mesure de retrait MRS\_F+, appliquée dans le cadre de la police sanitaire, semble celle induisant la plus forte réduction.



**FIGURE 9: EVOLUTION DE LA CHARGE INFECTIEUSE D'UNE CARCASSE (LOGMICLD50) INFECTEE PAR LA TREMBLANTE CLASSIQUE EN FONCTION DE L'AGE (ZOOM SUR 1-6 MOIS)**

Quant aux autres mesures systématiques de retrait en France et en Europe, elles semblent se superposer, à l'exception de deux zones sur lesquelles il est intéressant de revenir. La première zone se situe entre 1 et 6 mois. Le retrait des MRS français dès l'âge de 1 mois permet le retrait de l'infectiosité dans les amygdales, les yeux, le crâne. Par la suite un second décrochage des courbes se produit entre 6 et 12 mois, lequel disparaît totalement au-delà. La baisse de l'infectiosité est due au retrait des tissus du SNC ; pour les animaux de plus de 12 mois, à mesure identique, réduction identique.

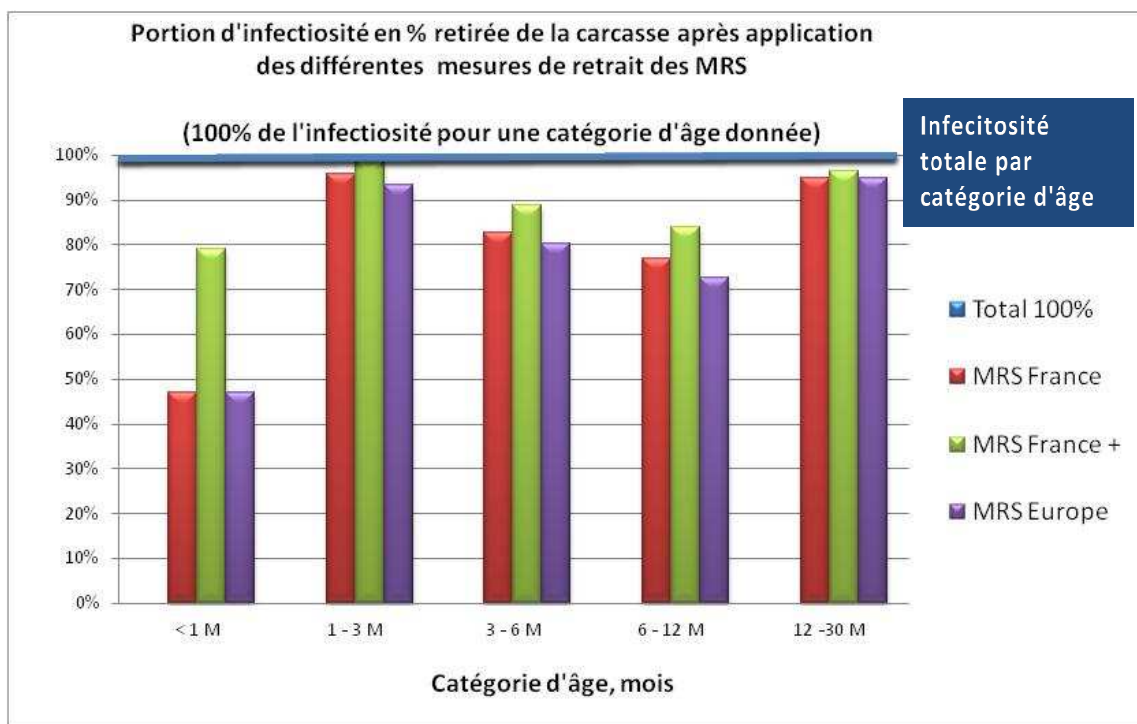
Quel que soit l'âge, la mesure MRS France+ (liste étendue dans le cadre de la police sanitaire) est celle qui réduit le plus fortement l'infectiosité. Toute l'infectiosité dans la tête et les intestins est retirée et cette mesure est bénéfique à tout âge.



**FIGURE 10: REDUCTION DE LA CHARGE INFECTIEUSE DUE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE SUITE A L'APPLICATION DE DIVERSES MESURES DE RETRAIT DES MRS (LOG)**

La figure 10 propose une autre présentation permettant de faciliter l'interprétation. Par souci de clarté les données sont présentées à l'échelle logarithmique. L'infectiosité est présentée par catégorie d'âge en distinguant pour chacune l'impact des différentes mesures. Pour toute catégorie d'âge, les mesures appliquées

apportent une réduction de plus de 1 logMICLD50 (soit d'un facteur 1000). La lecture graphique à l'échelle logarithmique doit toutefois être analysée avec précaution ; la figure 10 pouvant donner l'impression erronée que les mesures ont un faible impact. D'où l'intérêt de présenter les résultats différemment avec la figure 11.



**FIGURE 11: POURCENTAGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE DUE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE RETIREE SUITE A L'APPLICATION DE DIVERSES MESURES DE RETRAIT DES MRS (%)**

L'interprétation de la figure 11 confirme la réduction importante due à l'application des mesures de retrait. A l'exception des individus de moins de 1 mois, (dont l'infectiosité totale est très faible), la réduction de l'infectiosité est comprise entre 70 et 100%. Le retrait français dans le cadre de la police sanitaire (MRS\_F+) apporte la plus forte réduction quel que soit l'âge. Si on observe les pourcentages de réduction entre 1 mois et 12 mois, les mesures européennes se situent constamment en-deçà de mesures françaises. La ligne horizontale représente 100% de l'infectiosité présente sur une carcasse moyenne infectée pour une tranche d'âge donnée. Cette infectiosité totale est très différente d'une catégorie d'âge à l'autre, comme le montre le tableau 14.

**TABLEAU 14: CHARGE INFECTIEUSE TOTALE PAR CATEGORIE D'AGE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ**

Age	Charge infectieuse totale (équivalent au 100% sur la figure 10)	
	arithmétique	logMDL50
< 1 M	1,24E+01	1.13
1 - 3 M	1,15E+04	4.06
3 - 6 M	3,79E+06	6.58
6 - 12 M	2,08E+07	7.32
12 -30 M	9,81E+07	7.99

## II. Quantification de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire

Les trois scénarii décrits précédemment vont permettre d'estimer l'impact des mesures françaises et européennes. Le scénario 0 sert de référentiel.

### A. Scénario 0/ Aucune intervention

L'infectiosité ne subit aucune réduction en l'absence de mesure. L'infectiosité totale portée par une carcasse moyenne équivaut à la somme des infectiosités individuelles de chaque organe (Tableau 15).

**TABLEAU 15: CHARGE INFECTIEUSE TOTALE D'UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ**

*(SCENARIO 0 ET HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE)\**

$TI_0$ : Infectiosité de la carcasse moyenne,	arithmétique	Log MDL50
	8,56E+05	5.9

### B. Scénario 1/ Cas d'un troupeau infecté et non détecté

La réduction de l'infectiosité pour une carcasse moyenne provenant d'un troupeau infecté, non détecté est présentée dans le tableau 16. Les résultats sont exprimés en pourcentage et en valeur arithmétique, pour la France et l'Europe et calculés à partir des équations 3, 4, 8 et 9.

**TABLEAU 16: INFECTIOSITE RESIDUELLE ET REDUCTION DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS D'UN TROUPEAU INFECTE NON DETECTE**

*(SCENARIO 1 ET HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE. REDUCTION DE L'INFECTIOSITE PAR RAPPORT AU SCENARIO 0)*

Troupeau infecté non détecté	FR*	EU**
<b>TI<sub>1</sub>, Infectiosité résiduelle scénario 1, LOG</b>	4.97	5.02
<b>RRI<sub>1-0</sub>, LOG</b>	5.88	5.88
<b>RRI<sub>1-0</sub>, %</b>	89,1%	87,9%

\*RETRAIT MRS FRANCE; \*\* RETRAIT MRS EUROPE

Ce scénario ne fait intervenir que le retrait systématique des MRS à l'abattoir puisque le troupeau, dont les carcasses sont issues, n'est pas identifié comme atteint de tremblante classique. La réduction de l'infectiosité est du même ordre de grandeur quelle que soit la liste de retrait adoptée. En valeur arithmétique l'écart est d'environ 10<sup>4</sup>, et s'explique par les différences d'application avant 12 mois entre la France et l'Europe.

### C. Scénario 2/ Cas d'un troupeau infecté et détecté

Le système de surveillance a été capable de détecter le troupeau dans lequel se trouvaient des animaux atteints de la tremblante classique. En conséquence, des mesures françaises plus strictes s'appliquent, à savoir la liste étendue de MRS et la sélection des individus résistants. Au niveau européen, il s'agit toujours de réaliser un test sur les individus de plus de 18 mois entrant la chaîne alimentaire, mais ciblé sur le troupeau identifié. Les résultats sont calculés à partir des équations 5, 6, 10 et 11.

**TABLEAU 17: INFECTIOSITE RESIDUELLE ET REDUCTION DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS D'UN TROUPEAU INFECTE ET DETECTE**

*(SCENARIO 2 ET HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE. REDUCTION DE L'INFECTIOSITE PAR RAPPORT AU SCENARIO 0)*

Troupeau infecté et détecté	FR*	EU**
<b>TI<sub>2</sub>, Infectiosité résiduelle scénario 2, LOG</b>	0.62	4.95
<b>RRI<sub>2-0</sub>, LOG</b>	5.93	5.88
<b>RRI<sub>2-0</sub>, %</b>	100%	89,6%

\*Retrait MRS Europe; \*\* Retrait MRS France+ et abattage des animaux sensibles

En Europe, comme l'indique le tableau 17, l'identification d'un troupeau infecté, entraîne une réduction supplémentaire de 2% de l'infectiosité : par rapport au scénario 1, les individus de plus de 18 mois du troupeau identifié sont testés et non plus un échantillon de la population ovine. L'application des mesures européennes

se situe autour d'un log, l'infectiosité résiduelle est de l'ordre de  $10^4$ . En revanche la France applique des mesures spécifiques au troupeau atteint et identifié. Le bénéfice de ces mesures, liste étendue des MRS et abattage des animaux sensibles, est directement visible. La détection d'un troupeau et de fait, l'application des mesures sanitaires, s'accompagnent d'une réduction de l'exposition de 100% (comparée à 89,1% dans le scénario 1). L'application des mesures françaises permet le retrait de 5log d'infectiosité. A partir de la détection d'un troupeau infecté et la mise en œuvre des mesures de police sanitaire, **les mesures adoptées par la France dans le cadre de la police sanitaire, sont donc plus adaptées pour apporter une protection maximale au consommateur français**. Le choix d'abattre dès 3 mois les individus sensibles est une approche bénéfique. Toutefois cette stratégie repose sur un système de surveillance efficace. En effet, le bénéfice des mesures françaises de la police sanitaire est corrélé au niveau de surveillance choisi, comme le montre le chapitre suivant.

### III. Réduction globale de l'infectiosité (RGI) et impact de la sensibilité du système surveillance (SSS)

#### A. Réduction globale de l'infectiosité (RGI)

La réduction globale de l'infectiosité (RGI) traduit le compromis entre les scénarios 1 et 2 en fonction de la sensibilité du système de surveillance et de sa capacité à détecter les troupeaux infectés. Les résultats suivants sont calculés à partir des équations 12 et 13 (Tableau 18).

**TABLEAU 18: REDUCTION GLOBALE DE L'INFECTIOSITE POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ET UN SYSTEME DE SURVEILLANCE DONNE**

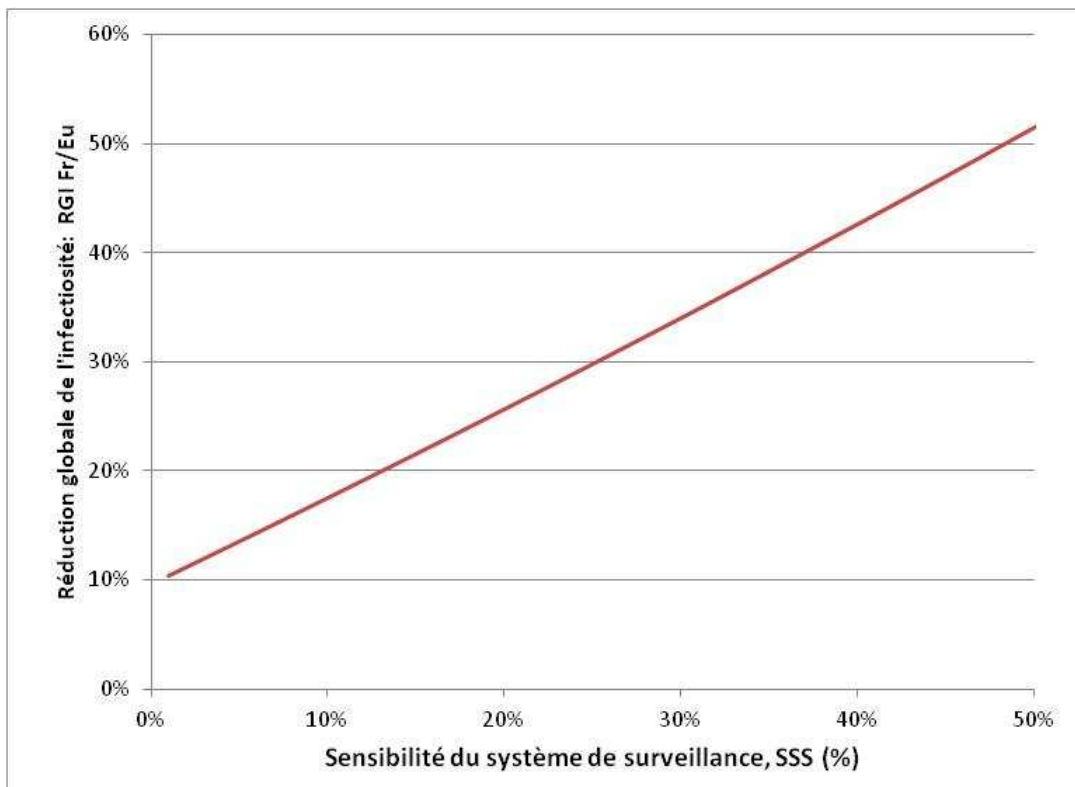
*(HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE ET SYSTEME DE SURVEILLANCE DE SENSIBILITE SSS= 10%)*

	%
<b>RGE<sub>EU</sub> *</b>	<b>88,1</b>
<b>RGE<sub>FR</sub> *</b>	<b>90,2</b>

#### B. Impact de la surveillance sur la réduction globale de l'infectiosité (RGI)

Les RGI calculées dans la partie précédente tiennent compte de la sensibilité du système de surveillance (ici 10%) et permettent d'établir un compromis entre les

scénarii 1 et 2 pour la France et l'Europe. Désormais nous souhaitons exprimer l'impact relatif des mesures françaises par rapport aux mesures européennes, en tenant compte de l'influence de la sensibilité du système de surveillance. Il s'agit donc de la  $RGI_{Fr/Eu}$ , calculée à partir de l'équation 14. Comme l'indique la figure 12, plus la sensibilité du système de surveillance est forte, plus la réduction globale de l'infectiosité  $RGI_{Fr/Eu}$  augmente, mettant en avant le bénéfice des mesures françaises.



**FIGURE 12: VARIATION DE LA RGI FR/EU POUR UNE CARCASSE MOYENNE D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ ISSUS POUR UNE SSS DONNEE ET SELON L'HYPOTHESE 2 D'ABATTAGE**

*A noter que : compte tenu de la sensibilité des tests rapides sur lesquels repose la surveillance des EST chez les ovins, la sensibilité du système ne peut atteindre au mieux que 50% et toute valeur au-delà semble inaccessible dans les conditions actuelles.*

L'interprétation de la figure 12, nous amène aux conclusions suivantes concernant la plus value des mesures françaises par rapport aux mesures européennes :

- i. En l'absence de surveillance, le retrait des MRS intervenant à l'abattoir représente la seule mesure prise en compte. La liste de retrait adoptée par la



France apporte une réduction d'infectiosité supplémentaire de 10% par rapport à la liste de retrait communautaire.

- ii. De la détection de troupeaux atteints de tremblante classique grâce à la surveillance à l'abattoir et à l'équarrissage, découlent les mesures de police sanitaire de la France et de l'Europe. Comme vu précédemment, ces mesures françaises de police sanitaire s'avèrent plus efficaces en termes de réduction de l'infectiosité.
- iii. Plus le nombre de troupeaux infectés et détectés est grand, plus l'efficacité des mesures françaises par rapport aux mesures communautaires s'accroît.

Pour un système de surveillance estimé à 10% (sensibilité actuelle en France à partir d'une fraction d'échantillonnage de 3% en abattoir et 3 à 4 fois supérieure dans les centres d'équarrissage), la plus-value des mesures de police sanitaire françaises est estimée à 8%.

En prenant en compte l'ensemble des mesures (retrait des MRS (i), application de la police sanitaire (ii), selon le système actuel de surveillance, les mesures françaises apportent une réduction supplémentaire de près de 18% de l'infectiosité.

### C. *Variabilité selon les hypothèses d'abattage*

Dans le tableau 19 et la figure 13, nous reprenons les hypothèses d'abattage envisagées auparavant (Tableau 13) et les croisons avec différentes sensibilités du système de surveillance choisies arbitrairement.

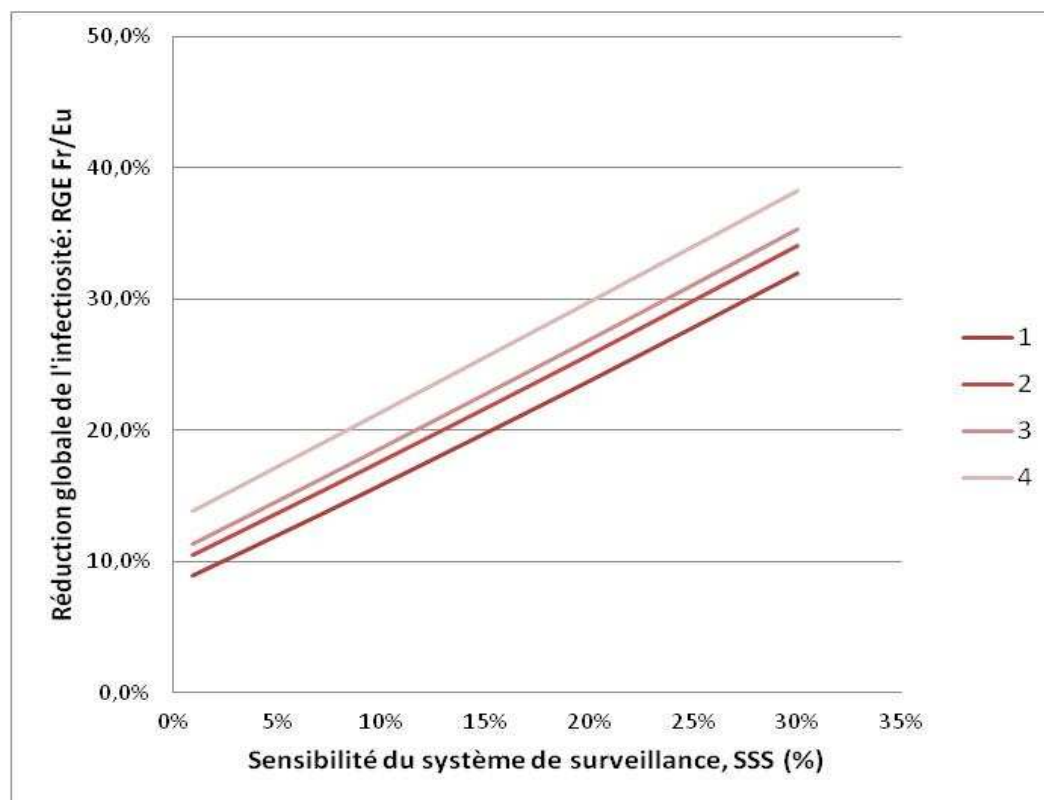
Comme vu précédemment l'hypothèse 2 d'abattage et un système de surveillance sensible à 10% apportent une RGE de l'ordre de 18%. Il est intéressant de constater qu'avec une surveillance réduite de moitié, et avec des volumes d'abattage principalement entre 1 et 6 mois (hypothèse 4), une réduction similaire de l'exposition pourrait être atteinte (17,2%) alors qu'avec une surveillance maintenue à 10%, la réduction atteindrait 21,4%. L'augmentation des volumes d'abattage des animaux âgés de 1 à 6 mois favorise la plus-value des mesures françaises, que ce soient via le retrait des MRS ou les mesures de police sanitaire.

**TABLEAU 19: VARIATION DE RGE FR/EU EN FONCTION DES HYPOTHESES D'ABATTAGE ET POUR DIFFERENTES SENSIBILITE DU SYSTEME DE SURVEILLANCE**

		Hypothèses d'abattage			
		1	2	3	4
<b>Sensibilité du système de surveillance</b>	<b>1%</b>	8,9%	10,5%	11,3%	13,8%
	<b>5%</b>	11,9%	13,6%	14,5%	17,2%
	<b>10%</b>	15,8%	17,6%	18,6%	21,4%
	<b>20%</b>	23,7%	25,7%	26,8%	29,8%
	<b>30%</b>	32,0%	34,1%	35,3%	38,3%

La plus-value globale des mesures françaises selon les différentes hypothèses d'abattage se situe entre 0,8% (hypothèses 2-3 pour SSS=1%) et 6,3% (hypothèses 1-4 pour SSS=3). Si on observe à présent l'impact des différentes sensibilités de la surveillance, la plus-value varie de 3% (SSS 1%-5% pour l'hypothèse d'abattage 1) à 24,5% (SSS 1%-30% pour l'hypothèse d'abattage 4).

Il n'est pas surprenant que la réduction de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire soit corrélée à la sensibilité du système de surveillance. En effet, alors que les hypothèses d'abattage influent principalement sur l'efficacité du retrait des MRS, la sensibilité du système de surveillance impacte quant à elle sur la mise en œuvre des mesures de police sanitaire. Cela va dans le même sens que les résultats précédents qui tendent à démontrer que c'est la mise en œuvre de la police sanitaire qui est déterminante pour réduire l'infectiosité.



**FIGURE 13: VARIATION DE LA RGI POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELEVRQ EN FONCTION DE LA SSS POUR LES 4 HYPOTHESES D'ABATTAGE**

#### IV. Evaluation de la sensibilité du modèle

L'option choisie pour le développement de ce modèle repose sur la sélection des valeurs hautes dans l'avis de l'EFSA de 2010, pour les titres infectieux et pour les masses des tissus. La sensibilité peut être évaluée en appliquant à notre modèle les valeurs basses les données extraites du tableau de l'EFSA (annexe D), et compilées dans l'annexe E. Toutes hypothèses étant égales par ailleurs, et le critère de jugement restant inchangé, la sensibilité du modèle est testée à l'aide de ce nouveau jeu de données. Le tableau 20 synthétise les résultats obtenus pour l'hypothèse basse (en y apposant ceux de l'hypothèse haute pour faciliter la comparaison).

**TABLEAU 20 : EVALUATION DE LA SENSIBILITE DU MODELE (DONNEES POUR LES OVINS PORTEUR DE L'ALLELE VRQ)**

Données du modèle EFSA	Valeurs hautes		Valeurs basses	
	France	Europe	France	Europe
Infectiosité totale carcasse moyenne	8,56E+05		4,01E+05	
Réduction relative de l'infectiosité Scénario 1 vs. 0	89,1%	87,9%	95,6%	95,2%
Réduction relative de l'infectiosité Scénario 2 vs. 0	100%	89,6%	100%	96,4%
Réduction relative de l'infectiosité 1+2 vs. 0 ; SSS =10%	90,2%	88,1%	96%	95,3%

	Hypothèse	RRE (MRS)	RRE (POLICE SANITAIRE)	RGE SSS =10%
% de réduction globale de l'infectiosité	« HAUTE »	10,5%	7,1%	17,6%
	« BASSE »	9,4%	6,3%	15,7%

A la lecture de ces résultats, on peut conclure que le modèle est peu sensible aux données elles-mêmes. Quel que soit le jeu de données utilisé, le modèle apparaît fiable pour évaluer l'impact de l'application des différentes mesures sur la réduction de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire.

## **PARTIE 5 : DISCUSSION**

Cette discussion est structurée de façon à aborder dans un premier temps les aspects liés à la qualité des données et dans un deuxième temps, les paramètres du modèle ainsi que les hypothèses retenues.

Concernant les données, elles sont extraites du rapport de l'EFSA de 2010, par ailleurs reprises par l'Agence dans son avis de septembre 2011. Ces données sont issues d'études expérimentales datant de 1982 et menées par Hadlow et servent toujours de référence dans le domaine. Malgré une avancée certaine des connaissances scientifiques et des méthodes analytiques et biochimiques, ce sont les seules données disponibles permettant de quantifier l'infectiosité dans les tissus et pouvant donc servir de base pour l'étude.

Une révision des tableaux de l'étude d'Hadlow a permis de mettre en évidence certaines incohérences. Des moyennes arithmétiques sont calculées par groupe tissulaire pour des individus différents. Une moyenne géométrique eut été plus appropriée afin de prendre en compte la variabilité interindividuelle ; la moyenne arithmétique permettant seulement de rendre compte de la diffusion de l'infectiosité au sein d'un organe (en considérant que celle-ci est homogène). Par ailleurs le jeu de données proposé par l'EFSA est parfois incomplet, et certaines données sont erronées. Certains ajustements ont permis de rectifier ces erreurs (masse des tonsilles entre 6 et 12 mois, masse des tissus musculaires). Les titres infectieux et les masses des organes à 2, 10 et 13 mois d'âge ont été extrapolés à partir des informations disponibles. En ce qui concerne le thymus, le tableau de l'EFSA fait état d'une infectiosité maximale détectée autour de 3 mois d'âge, comme pour les sites de réplication primaire, tels les amygdales, ou les tissus lymphoïdes de l'intestin. Les études ont décrit le thymus plutôt comme un site de réplication secondaire, tels les tissus lymphoïdes de l'abdomen et du thorax. Ainsi, les titres infectieux du thymus ont été adaptés pour correspondre à ceux d'un site de réplication secondaire.

A l'initiative de l'EFSA, un projet est en cours, il devrait déboucher sur les titres infectieux des différents tissus pour toutes souches et toutes espèces confondues.

Tout le modèle repose sur l'évolution de l'infectiosité en fonction de l'âge. Les titres infectieux sont obtenus par bio essais à partir de tissus d'individus de génotype sensible. A défaut de données complémentaires, les titres infectieux sont identiques pour tous les individus (sensibles et résistants). La même dynamique de dissémination est appliquée, alors que chez les individus résistants, la progression est plus lente avec une très faible répllication de la protéine pathogène en périphérie, et une apparition des signes cliniques plus tardive. L'application du modèle avec les seules données disponibles, individus porteurs de l'allèle VRQ, présente une situation défavorable. Par exemple, les individus porteurs de l'allèle ARQ présenteraient des signes cliniques autour de 32 mois, avec une neuroinvasion autour de 16 mois (Baylis, Chihota et al. 2004). Quant aux individus porteurs de l'allèle d'hyper-résistance ARR, ils présentent une neuroinvasion encore plus tardive et une infectiosité négligeable au niveau des tissus périphériques. Les enquêtes épidémiologiques réalisées par l'Anses démontrent que la proportion entre les porteurs des allèles VRQ, ARQ et ARR est respectivement de moins de 1%, 74% et 25%. La faible proportion d'individus porteurs de l'allèle VRQ, et les informations apportées par l'étude de Baylis, ne justifie pas un retrait du SNC à partir de 6 mois tel qu'il est pratiqué en France. L'étude de sensibilité menée à partir des valeurs basses des données montre toutefois que l'objectif du modèle, qui est de comparer les mesures de précaution françaises et européennes, est atteint.

L'observation des différents tissus nous amène à apporter quelques commentaires, en particulier concernant le thymus et les muscles. La liste des MRS est constituée d'organes dont on sait qu'ils sont porteurs d'infectiosité. La protection du consommateur passe par leur retrait afin de réduire l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire. A l'âge de 2 mois, la charge infectieuse au niveau du thymus est du même ordre que dans les organes lymphoïdes de la tête, qui eux sont retirés dès 1 mois. On est donc en mesure de se demander pour quelles raisons le thymus n'a jamais été pris en compte dans la liste de retrait, que ce soit en France comme en Europe. Pour les muscles squelettiques, la détection de l'infectiosité est tardive, après 13 mois. Au stade clinique de la tremblante classique, le titre infectieux par gramme dans le muscle équivaut à  $1/2500^{\text{ème}}$  celui trouvé dans l'obex. Compte tenu de la masse totale du tissu musculaire à l'âge adulte, et de la large diffusion de l'infectiosité dans ce tissu, les muscles constituent cependant une source infectieuse

importante. A l'âge d'apparition des signes cliniques, ils représentent 15% de l'infectiosité résiduelle de la carcasse. Toutefois, le tissu musculaire ne peut être considéré au même titre que certains autres organes (encéphale, thymus...) si on tient compte des modes de consommation. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Concernant le modèle, il a été développé dans le but de comparer les mesures plus strictes maintenues par la France, et venant en complément des mesures imposées par la communauté européenne.

**Le modèle tel qu'il est proposé ici, est à une étape intermédiaire de son développement.** Il est essentiellement déterministe, seule la variabilité de l'infectiosité en fonction de l'âge est prise en compte. Le modèle se situe au niveau individuel (la carcasse) avec pour chaque paramètre, un ordre de grandeur fixe. Ainsi, il tient compte d'une carcasse moyenne, représentative d'un individu moyen. Une telle moyenne qui consiste à rassembler plusieurs individus différents, ne peut se faire que de façon probabiliste. A ce stade du développement, l'erreur principale est donc de ne pas prendre en compte la variabilité des paramètres au niveau du troupeau. La variabilité intra-troupeau tient compte de paramètres importants, comme la répartition démographique, la fréquence allélique ou la variabilité biologique sur la croissance des organes, ainsi que de l'interaction entre ces paramètres. En l'état, il s'agit d'un modèle simple permettant d'apporter des éclairages avec des limites connues et les hypothèses posées, sur lesquelles nous allons revenir.

L'analyse de la sensibilité du modèle est réalisée dans la partie 4, chapitre IV. Bien que faible, une certaine sensibilité du modèle aux données de base est constatée. Quelles que soient les données d'infectiosité et de masses des organes choisies, le résultat confirme l'impact majeur, sur la réduction de l'infectiosité, des mesures sanitaires françaises, qui se fondent sur l'application de la police sanitaire dans les élevages infectés et détectés et l'extension de la liste des MRS pour les animaux entrant la chaîne alimentaire. Par ailleurs, il confirme l'importance tout particulière qui doit être portée à la détection des troupeaux infectés. La mise en place de la police sanitaire, en particulier la sélection des individus résistants, constitue une barrière efficace contre l'entrée de carcasse infectée dans la chaîne alimentaire. Enfin, cette

analyse met en avant le fait que l'utilisation de données hautes, traduisant une infectiosité apparente supérieure à celle réellement observée sur les carcasses, met plus en avant la plus-value des mesures françaises.

Le modèle se limite aux opérations strictement réalisées à l'abattoir. Il ne prend pas en compte les opérations liées à la préparation des produits carnés qui ont lieu par la suite. Lors de ces opérations de découpe et de préparation, des tissus présentant une certaine charge infectieuse, pourraient être retirés (certains nœuds lymphatiques en particulier), et conduiraient à une réduction de l'infectiosité entrant la chaîne alimentaire. Prendre en compte ces opérations post-abattage induirait une baisse de la charge infectieuse portée par la carcasse ou les abats. Au niveau de notre évaluation des mesures de gestion, une intervention qui tendrait à diminuer l'infectiosité, induirait une diminution de la plus-value des mesures françaises, en particulier la police sanitaire. Ici, le critère de jugement est l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire, et non l'exposition du consommateur, laquelle serait tenue de considérer, d'abord ces opérations post-abattoir, puis les modes de consommation de viande ovine en France.

Pour la viande ovine, les modes de consommation incluent : le type d'aliments consommés (gigot, côtes d'agneaux, charcuterie, plats préparés etc.), les volumes annuels, la fréquence annuelle de consommation, ainsi que les pratiques domestiques de préparation. Ces données complexes sont indispensables à l'évaluation d'une exposition réelle.

L'Anses avait indiqué, au travers de son avis d'avril 2010, qu'il n'était pas scientifiquement pertinent de considérer qu'aucun agent animal des EST, autre que l'ESB classique, ne présente de risque zoonotique. Par conséquent ce risque ne devait être exclu, et le maintien des mesures de précaution se justifiait. En l'absence d'effet dose-réponse, le risque que représente la tremblante classique pour les humains ne peut être évalué. Tout au plus l'exposition réelle des consommateurs pourrait être estimée.

Concernant les hypothèses de notre modèle, elles sont présentées dans l'encadré de la partie 2 (chapitre III) et mettent également en avant les limites de notre modèle.



- L'infectiosité qui se base sur les données disponibles uniquement pour les ovins porteurs de l'allèle VRQ, n'est pas représentative de la population ovine actuelle en France. En effet, les études épidémiologiques menées par l'Anses, semblent démontrer que la fréquence de l'allèle VRQ en France est inférieure à 5% (Anses 2012). Le génotypage aléatoire en 2011 de 792 ovins négatifs au test rapide à l'abattoir (288 animaux) et à l'équarrissage (517 animaux) montre une distribution des fréquences alléliques en France de l'ordre de 55% pour l'allèle ARR (53,5% à l'abattoir ; 56,8 à l'équarrissage), autour de 40% pour l'allèle ARQ, confondu avec l'allèle AHQ (40,2% à l'abattoir ; 34,5% à l'équarrissage) et moins de 5% pour l'allèle VRQ (4,9% à l'abattoir ; 6,2% à l'équarrissage). Pour chacune des fréquences, l'âge d'apparition des signes cliniques, l'âge de la neuroinvasion du SNC et la dissémination périphérique de l'infectiosité vont varier.
- Seuls les ovins nés, élevés et abattus en France sont pris en compte. Or, en 2011, sur les 189.000 tonnes équivalentes carcasse (téc<sup>12</sup>) consommées en France, 112.000téc étaient importées (GEB 2011). Par conséquent, seuls 40% de viandes ovines consommées en France sont produits en France. Les autres 60% de viandes ovines consommées en France proviennent d'importations de l'Europe - Royaume-Uni (47%), Irlande (16%) et Espagne (8%) - et hors de l'Europe, principalement Nouvelle-Zélande (21%).
- La masse des organes est corrélée à l'âge des individus, et doit tenir compte d'une forte variabilité interindividuelle. L'approche déterministe ne tient pas compte de cette variabilité.
- Dans cette étude, un ordre de grandeur de la sensibilité des tests rapides à 50% est considéré. Ces tests sur obex ne détectent que 50% des animaux infectés dans les troupeaux atteints, les 50 autres pourcents correspondant à des animaux en incubation porteurs d'infectiosité dans leurs organes lymphoïdes. La sensibilité des tests rapides dépend donc de la distribution d'âge et des fréquences alléliques dans le troupeau.
- Au sein d'un troupeau, la prévalence apparente de la tremblante classique a été étudiée dans le cadre de la surveillance active entre 2002 et 2007 et est estimée à 3.67% avec un intervalle de confiance binomial de [3.47-3.89] (Fediaevsky, Gasqui et al. 2010). Dans le présent modèle, elle est constante, indépendante de

---

<sup>12</sup> Carcasses congelées et réfrigérées.

l'âge et s'annule en simplifiant les équations. L'intervalle semble petit, d'autant que plusieurs études rapportent des valeurs de prévalence intra-troupeau comprises entre 1 et 30%. Une option pourrait être de prendre en compte la variation continue de cette prévalence avec l'âge, les pratiques d'élevage ou encore des caractéristiques du troupeau, comme la taille, la race, la génétique ou la zone géographique. Une autre option serait de considérer quelques valeurs discrètes entre 1 et 30% dans le modèle.

- La probabilité de détecter un individu infecté est variable selon la prévalence de la maladie dans le troupeau. Les prévalences intra-troupeaux ne peuvent donc être les mêmes pour des troupeaux infectés détectés et non détectés.

La réflexion en cours porte sur le développement d'un modèle probabiliste prenant en compte les éléments cités précédemment. De l'individu moyen à l'évaluation des mesures, le modèle reste inchangé. En revanche, l'intégration des données population suivantes permettra de mieux définir l'individu moyen :

- Pour les paramètres suivants, nous tiendrons compte de leur distribution au sein d'un troupeau infecté : la distribution de l'âge des individus au sein d'un troupeau, la durée d'incubation de la tremblante classique, la sensibilité du test en fonction de l'âge (plus l'âge de l'animal testé tend vers l'âge d'apparition des signes cliniques, plus la sensibilité du test est proche de 100%).
- Trois allèles sont majoritairement présents dans la population ovine : ARQ, ARR, VRQ. Compte tenu de la variabilité des fréquences alléliques dans les états membres de l'Union Européenne, trois scénarii représentatifs vont être proposés :
  - o Cheptel majoritairement résistant : Pays-Bas (Fréquence alléliques : 80% ARR ; 20% ARQ ; 0% VRQ) ;
  - o Cheptel de résistance moyenne : France (Fréquence alléliques : 25% ARR ; 74% ARQ ; 1% VRQ) ;
  - o Cheptel de faible résistance : Chypre (Fréquence alléliques : 15% ARR ; 70% ARQ ; 15% VRQ) ;
- Les titres infectieux des individus porteurs de l'allèle VRQ (hypersensibles) sont connus, ceux porteurs de l'allèle ARR (hyperrésistants) sont considérés négligeables. Pour les ovins porteurs de l'allèle ARQ (sensibles), il semble possible d'assimiler leur dynamique d'infectiosité pour la tremblante classique à celle des caprins. L'étude de Baylis publiée en 2004, a estimé, pour 14.000 ovins,

le risque de tremblante classique associé à différents génotypes et nous rapporte les âges d'apparition des signes cliniques pour les individus porteurs d'allèles VRQ et ARQ.

- Concernant la prévalence dans un troupeau infecté, le modèle va distinguer :
  - o La prévalence intra-troupeau pour un troupeau infecté et détecté dans le scénario 2, s'appuiera sur les données de Fediaevsky pour comparer les mesures française et européenne de police sanitaire.
  - o La prévalence intra-troupeau est difficilement estimable pour un troupeau infecté que la surveillance n'a pu détecter. Plutôt que la prévalence intra-troupeau, c'est l'estimation du nombre d'individus infectés et non détectés entrant à l'abattoir qui sera considérée pour le scénario 1 (qui on le rappelle offre une comparaison des mesures de retrait des MRS). Ces données sont disponibles dans l'avis rendu par l'EFSA en 2010, pour l'ensemble des états membres de l'Union Européenne. Pour la France, les données rapportent que 950 individus infectés et non détectés ont été envoyés à l'abattoir. Ce chiffre tient compte de l'ensemble des animaux vifs, élevés en France ou importés vivants des autres états membres.
- Selon une méthodologie identique à celle développée dans cette étude, le modèle va permettre de comparer, pour les animaux élevés et abattus en France, l'application des mesures françaises ou européennes (retrait des MRS et police sanitaire). Cette comparaison peut s'exprimer en équivalent de carcasses infectées par catégorie d'âge entrant dans la chaîne alimentaire par rapport au volume total de carcasses envoyées à l'abattoir, selon que l'on applique les mesures françaises ou les mesures européennes.
- L'infectiosité associée à une carcasse livrée à la chaîne alimentaire et provenant d'un animal infecté issu de la population « tout venant » entrant à l'abattoir, sera différente selon que le retrait des MRS français ou européens s'applique. A partir du nombre connu, par catégorie d'âge, d'animaux infectés non détectés entrant la chaîne alimentaire par pays, et de la quantité de carcasses importées en France, on peut estimer, par catégorie d'âge, le nombre de carcasses infectées provenant des autres états membres.

## CONCLUSION

Le présent modèle apporte une réflexion sur les mesures de gestion mises en œuvre au regard de la tremblante classique à l'aide d'une approche comparative entre la France et l'Union Européenne. Il montre que la plus-value des mesures françaises existe grâce au génotypage des individus sensibles et à l'extension de la liste des MRS retirés à l'abattoir pour un troupeau dans lequel un cas de tremblante a été détecté. Ce bénéfice dépend par conséquent de la probabilité de détecter ce cas et donc de la sensibilité du système de surveillance des EST ovines. Une surveillance renforcée par rapport au système actuellement mis en place induirait une plus forte probabilité de détecter les troupeaux infectés et par voie de conséquence un gain renforcé par les mesures françaises qui se montrent plus efficaces.

La présente étude porte sur la tremblante classique et concerne l'espèce ovine. Or, cette maladie atteint aussi l'espèce caprine, et la dissémination du prion, comme l'évolution du titre infectieux avec l'âge présentent des particularités qui sont propres à cette espèce. Une approche similaire pourrait être envisagée pour l'espèce caprine en utilisant le même modèle après lui avoir apporté les ajustements nécessaires. Il en est de même pour la tremblante atypique, pour laquelle la dissémination aux tissus périphériques est limitée.

Les mesures de gestion prises en compte dans cette étude portent uniquement sur la réduction de l'infectiosité portée par les carcasses et la non-entrée de carcasses potentiellement infectées dans la chaîne alimentaire. Alors qu'au niveau européen, aucune disposition sur le lait n'est prévue, le lait provenant des élevages français atteints de tremblante, potentiellement infectieux, est détruit pour toute la durée de l'arrêté préfectoral portant déclaration d'infection. La problématique du lait potentiellement infectieux n'est pas intégrée dans la présente étude. Aussi, pour aller plus loin dans la démarche comparative des mesures de gestion des EST ovines entre la France et l'Union Européenne, un nouveau modèle prenant en compte les titres infectieux du lait aux différents stades de la production pourrait être développé.

La présente étude a été menée en réponse à la saisie de l'Agence par la DGAL en 2012. Les conclusions présentées ici sont intermédiaires et seront révisées à l'issue de la publication de l'avis de l'Anses au cours du premier trimestre 2013.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afssa-1 (2007). Annexe de l'avis n°2006-SA-0343: de mande d'avis sur l'évolution des mesures de police sanitaire dans les cheptels ovins ou caprins dans lesquels un cas de tremblante atypique a été détecté: 27.
- Afssa-2 (2007). Avis n°2007-SA-0371: avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de la sensibilité diagnostique des tests rapides réalisés chez les petits ruminants sur un échantillon d'obex: 1-15.
- Afssa (2002). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d'évolution: 50.
- Afssa (2010). Avis n°2009-SA-0173 : avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif au risque zoonotique des différentes souches connues d'EST chez les petits ruminants.: 1-17.
- Aguzzi, A., F. Baumann, et al. (2008). "The prion's elusive reason for being." Annu Rev Neurosci **31**: 439-477.
- Andreoletti, O., P. Berthon, et al. (2000). "Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie." J Gen Virol **81**(Pt 12): 3115-3126.
- Andréoletti, O. and M. Herva (2008). When atypical scrapie crosses species barrier. Neuroprion. Madrid.
- Andreoletti, O., C. Lacroux, et al. (2002). "PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission." J Gen Virol **83**(Pt 10): 2607-2616.
- Andreoletti, O., S. Simon, et al. (2004). "PrPSc accumulation in myocytes from sheep incubating natural scrapie." Nat Med **10**(6): 591-593.
- Anses (2011). Avis n°2011-SA-0014: avis de l'Agence sur l'évaluation du risque sanitaire lié à l'introduction des protéines animales transformées dans l'alimentation de certains animaux de rente: 89.
- Anses (2012). Surveillance active de la tremblante chez les petits ruminants - Rapport d'analyse statistique – Analyse du programme 2011.
- Baylis, M. (2002). "The BSE-susceptible proportion of UK sheep." Vet Rec **151**(16): 481-482.
- Baylis, M., C. Chihota, et al. (2004). "Risk of scrapie in British sheep of different prion protein genotype." J Gen Virol **85**(Pt 9): 2735-2740.

- Beekes, M., E. Baldauf, et al. (1996). "Sequential appearance and accumulation of pathognomonic markers in the central nervous system of hamsters orally infected with scrapie." J Gen Virol **77 ( Pt 8)**: 1925-1934.
- Benestad, S. L., J.-N. Arsaç, et al. (2008). "Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology." Vet. Res. **39(4)**.
- Benestad, S. L., P. Sarradin, et al. (2003). "Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98." Vet Rec **153(7)**: 202-208.
- Biacabe, A. G., J. L. Laplanche, et al. (2004). "Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases." EMBO Rep **5(1)**: 110-115.
- Bolton, D. C., M. P. McKinley, et al. (1982). "Identification of a protein that purifies with the scrapie prion." Science **218(4579)**: 1309-1311.
- Brown, D. R., K. Qin, et al. (1997). "The cellular prion protein binds copper in vivo." Nature **390(6661)**: 684-687.
- Brown, D. R., B. S. Wong, et al. (1999). "Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase." Biochem J **344 Pt 1**: 1-5.
- Bruce, M. E., A. Boyle, et al. (2002). "Strain characterization of natural sheep scrapie and comparison with BSE." J Gen Virol **83(Pt 3)**: 695-704.
- Buschmann, A., A. G. Biacabe, et al. (2004). "Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests." Journal of Virological Methods **117(1)**: 27-36.
- Butler, D. (1998). "Doubts over ability to monitor risks of BSE spread to sheep." Nature **395(6697)**: 6-7.
- Castilla, J., P. Saá, et al. (2006). Protein Misfolding Cyclic Amplification for Diagnosis and Prion Propagation Studies. Methods in Enzymology. K. Indu and W. Ronald, Academic Press. **Volume 412**: 3-21.
- Clark, A. M. and J. A. Moar (1992). "Scrapie: a clinical assessment." Vet Rec **130(17)**: 377-378.
- Cockcroft, P. D. and A. M. Clark (2006). "The Shetland Islands scrapie monitoring and control programme: analysis of the clinical data collected from 772 scrapie suspects 1985-1997." Res Vet Sci **80(1)**: 33-44.
- Comber, T. and H. Morborne (1772). "A letter to Dr Hunter, physician in York, concerning the rickets in sheep, London." Real Improvements in Agriculture, Letters to Reade Peacock: 73-83.
- Corbiere, F., F. Barillet, et al. (2007). "Advanced survival models for risk-factor analysis in scrapie." J Gen Virol **88(Pt 2)**: 696-705.
- D'Angelo, A., C. Maurella, et al. (2007). "Assessment of clinical criteria to diagnose scrapie in Italy." Vet J **174(1)**: 106-112.

- DeArmond, S. J. and E. Bouzamondo (2002). "Fundamentals of prion biology and diseases." Toxicology **181–182**(0): 9-16.
- Detwiler, L. A. and R. Rubenstein (2000). "Bovine spongiform encephalopathy: an overview." ASAIO J **46**(6): S73-79.
- Dexter, G., S. C. Tongue, et al. (2009). "The evaluation of exposure risks for natural transmission of scrapie within an infected flock." BMC Vet Res **5**: 38.
- Duffy, P., J. Wolf, et al. (1974). "Letter: Possible person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease." N Engl J Med **290**(12): 692-693.
- Durand, B., M. A. Dubois, et al. (2004). "Multiscale modelling of scrapie epidemiology: II. Geographical level: hierarchical transfer of the herd model to the regional disease spread." Ecological Modelling **179**(4): 515-531.
- Dustan, B. H., Y. I. Spencer, et al. (2008). "A histopathologic and immunohistochemical review of archived UK caprine scrapie cases." Vet Pathol **45**(4): 443-454.
- EFSA-Q-2005-235 (2007). Opinion on the quantitative risk assessment on the residual BSE risk in sheep meat and meat products. The EFSA journal: 1-10.
- EFSA-Q-2007-202 (2008). Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Commission on a TSE risk assessment from carcasses of ovine and caprine animals below 6 months of age from TSE infected flocks intended for human consumption. The EFSA Journal.
- EFSA-Q-2010-0052 (2010). Scientific Opinion on BSE/TSE infectivity in small ruminant tissues Opinion of the Scientific Committee/Scientific Panel BIOHAZ 1-92.
- Eloit, M., K. Adjou, et al. (2005). "BSE agent signatures in a goat." Veterinary Record **156**(16): 523-524.
- European Commission (2002). "Update of the opinion on the TSE infectivity distribution in ruminant tissues." Directorate C - Scientific Opinions: 1-52.
- Everest, S. J., A. M. Ramsay, et al. (2011). "Detection and Localisation of PrP<sup>Sc</sup> in the Liver of Sheep Infected with Scrapie and Bovine Spongiform Encephalopathy." PLoS One **6**(5): e19737.
- Fediaevsky, A. (2009). Etudes épidémiologiques de la tremblante atypique ovine. Thèse doctorale d'université, Université Blaise Pascal.
- Fediaevsky, A., S. Bélichon, et al. (2007). "Surveillance et prévalence des EST chez les petits ruminants." Bulletin Epidémiologique **25**: 1-8.
- Fediaevsky, A., P. Gasqui, et al. (2010). "Discrepant epidemiological patterns between classical and atypical scrapie in sheep flocks under French TSE control measures." Vet J **185**(3): 338-340.
- Ferguson, N. M., A. C. Ghani, et al. (2002). "Estimating the human health risk from possible BSE infection of the British sheep flock." Nature **415**(6870): 420-424.



- Foster, J. D., J. Hope, et al. (1993). "Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats." Vet Rec **133**(14): 339-341.
- Foster, J. D., D. Parnham, et al. (2001a). "Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats." Vet Rec **148**(6): 165-171.
- Foster, J. D., D. W. Parnham, et al. (2001b). "Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with BSE following experimental oral transmission." J Gen Virol **82**(Pt 10): 2319-2326.
- Fryer, H. R., M. Baylis, et al. (2007). "Quantifying the risk from ovine BSE and the impact of control strategies." Proc Biol Sci **274**(1617): 1497-1503.
- Garza, M. C., N. Fernandez-Borges, et al. (2011). "Detection of PrPres in genetically susceptible fetuses from sheep with natural scrapie." PLoS One **6**(12): e27525.
- GEB (2011). "Institut de l'Elevage - L'année économique ovine - Perspectives 2012." Le dossier : Economie de l'élevage - Groupe Economie du Bétail
- Georgsson, G., J. A. Adolfsdottir, et al. (2008). "High incidence of subclinical infection of lymphoid tissues in scrapie-affected sheep flocks." Arch Virol **153**(4): 637-644.
- Goldmann, W., N. Hunter, et al. (1990). "Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(7): 2476-2480.
- Graner, E., A. F. Mercadante, et al. (2000). "Cellular prion protein binds laminin and mediates neuritogenesis." Brain Res Mol Brain Res **76**(1): 85-92.
- Gravenor, M. B., D. R. Cox, et al. (2001). "The flock-to-flock force of infection for scrapie in Britain." Proc Biol Sci **268**(1467): 587-592.
- Gravenor, M. B., P. Pappasozomenos, et al. (2004). "A scrapie epidemic in Cyprus." Epidemiol Infect **132**(4): 751-760.
- Griffith, J. S. (1967). "Nature of the Scrapie Agent: Self-replication and Scrapie." Nature **215**(5105): 1043-1044.
- Gubbins, S. (2005). "A modelling framework to describe the spread of scrapie between sheep flocks in Great Britain." Prev Vet Med **67**(2-3): 143-156.
- Gubbins, S. (2008). "Prevalence of sheep infected with classical scrapie in Great Britain: integrating multiple sources of surveillance data for 2002." J R Soc Interface **5**(28): 1343-1351.
- Gubbins, S., A. M. Clark, et al. (2006). "Results of a postal survey of scrapie in the Shetland Islands in 2003." Vet Rec **158**(8): 255-260.
- Gubbins, S. and K. M. McIntyre (2009). "Prevalence of sheep infected with classical scrapie in Great Britain, 1993-2007." Epidemiol Infect **137**(6): 787-791.

- Gubbins, S., M. M. Simmons, et al. (2003). "Prevalence of scrapie infection in Great Britain: interpreting the results of the 1997-1998 abattoir survey." Proc Biol Sci **270**(1527): 1919-1924.
- Gubbins, S., S. Touzeau, et al. (2010). "The role of mathematical modelling in understanding the epidemiology and control of sheep transmissible spongiform encephalopathies: a review." Vet Res **41**(4): 42.
- Hadlow, W. J. (1982). "Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus." Journal of Infectious Diseases **146**(5): 657-664.
- Hagenaars, T. J., C. A. Donnelly, et al. (2006). "Epidemiological analysis of data for scrapie in Great Britain." Epidemiol Infect **134**(2): 359-367.
- Hagenaars, T. J., C. A. Donnelly, et al. (2000). "The transmission dynamics of the aetiological agent of scrapie in a sheep flock." Math Biosci **168**(2): 117-135.
- Hagenaars, T. J., C. A. Donnelly, et al. (2003). "Dynamics of a scrapie outbreak in a flock of Romanov sheep--estimation of transmission parameters." Epidemiol Infect **131**(2): 1015-1022.
- Harris, D. A., M. T. Huber, et al. (1993). "Processing of a cellular prion protein: identification of N- and C-terminal cleavage sites." Biochemistry **32**(4): 1009-1016.
- Hartsough, G. R. and D. Burger (1965). "Encephalopathy of mink. I. Epizootiologic and clinical observations." J Infect Dis **115**(4): 387-392.
- Hill, A. F. and J. Collinge (2003). "Subclinical prion infection." Trends Microbiol **11**(12): 578-584.
- Hoinville, L. J. (1996). "A review of the epidemiology of scrapie in sheep." Rev Sci Tech **15**(3): 827-852.
- Hopp, P., C. R. Webb, et al. (2003). "Monte Carlo simulation of surveillance strategies for scrapie in Norwegian sheep." Preventive Veterinary Medicine **61**(2): 103-125.
- Jeffrey, M., S. Martin, et al. (2001). "Onset and distribution of tissue prp accumulation in scrapie-affected suffolk sheep as demonstrated by sequential necropsies and tonsillar biopsies." J Comp Pathol **125**(1): 48-57.
- Kao, R. R., M. B. Gravenor, et al. (2002). "The potential size and duration of an epidemic of bovine spongiform encephalopathy in British sheep." Science **295**(5553): 332-335.
- Kao, R. R., M. B. Gravenor, et al. (2001). "Modelling the national scrapie eradication programme in the UK." Math Biosci **174**(2): 61-76.
- Konold, T., S. J. Moore, et al. (2008). "Evidence of scrapie transmission via milk." BMC Veterinary Research **4**(1): 14.
- Kretzschmar, H. A., S. B. Prusiner, et al. (1986). "Scrapie prion proteins are synthesized in neurons." Am J Pathol **122**(1): 1-5.

- Lacroux, C., F. Corbière, et al. (2007). "Dynamics and genetics of PrPSc placental accumulation in sheep." Journal of General Virology **88**(3): 1056-1061.
- Lacroux, C., S. Simon, et al. (2008). "Prions in Milk from Ewes Incubating Natural Scrapie." PLoS Pathog **4**(12): e1000238.
- Le Dur, A., V. Beringue, et al. (2005). "A newly identified type of scrapie agent can naturally infect sheep with resistant PrP genotypes." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(44): 16031-16036.
- Leclerc, E., H. Serban, et al. (2006). "Copper induces conformational changes in the N-terminal part of cell-surface PrPC." Arch Virol **151**(11): 2103-2109.
- Lu, Z. Y., C. A. Baker, et al. (2004). "New molecular markers of early and progressive CJD brain infection." J Cell Biochem **93**(4): 644-652.
- Lugaresi, E., R. Medori, et al. (1986). "Fatal familial insomnia and dysautonomia with selective degeneration of thalamic nuclei." N Engl J Med **315**(16): 997-1003.
- Luhken, G., A. Buschmann, et al. (2007). "Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases." Vet Res **38**(1): 65-80.
- Matthews, L., M. E. Woolhouse, et al. (1999). "The basic reproduction number for scrapie." Proc Biol Sci **266**(1423): 1085-1090.
- McKinley, M. P., D. C. Bolton, et al. (1983). "A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion." Cell **35**(1): 57-62.
- Moser, M., R. J. Colello, et al. (1995). "Developmental expression of the prion protein gene in glial cells." Neuron **14**(3): 509-517.
- Moum, T., I. Olsaker, et al. (2005). "Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases." J Gen Virol **86**(Pt 1): 231-235.
- Ozel, M. and H. Diring (1994). "Small virus-like structure in fractions from scrapie hamster brain." Lancet **343**(8902): 894-895.
- Parry, H. B. (1962). "Scrapie: a transmissible and hereditary disease of sheep." Heredity (Edinb) **17**: 75-105.
- Pauly, P. C. and D. A. Harris (1998). "Copper stimulates endocytosis of the prion protein." J Biol Chem **273**(50): 33107-33110.
- Pearson, G. R., T. J. Gruffydd-Jones, et al. (1991). "Feline spongiform encephalopathy." Vet Rec **128**(22): 532.
- Prusiner, S. B. (1982). "Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie." Science **216**(4542): 136-144.
- Prusiner, S. B. (1993). "Prion encephalopathies of animals and humans." Dev Biol Stand **80**: 31-44.

- Prusiner, S. B. (1998). "Prions." Proceedings of the National Academy of Sciences **95**(23): 13363-13383.
- Prusiner, S. B. (2008). "Reflections on kuru." Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **363**(1510): 3654-3656.
- Prusiner, S. B., S. P. Cochran, et al. (1982). "Measurement of the scrapie agent using an incubation time interval assay." Ann Neurol **11**(4): 353-358.
- Rongyan, Z., L. Xianglong, et al. (2008). "Evolution and differentiation of the prion protein gene (PRNP) among species." J Hered **99**(6): 647-652.
- Rosenthal, N. P., J. Keeseey, et al. (1976). "Familial neurological disease associated with spongiform encephalopathy." Arch Neurol **33**(4): 252-259.
- Ryder, S., G. Dexter, et al. (2004). "Demonstration of lateral transmission of scrapie between sheep kept under natural conditions using lymphoid tissue biopsy." Res Vet Sci **76**(3): 211-217.
- Sabatier, P., B. Durand, et al. (2004). "Multiscale modelling of scrapie epidemiology: I. Herd level: a discrete model of disease transmission in a sheep flock." Ecological Modelling **180**(2-3): 233-252.
- Saborio, G. P., B. Permanne, et al. (2001). "Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding." Nature **411**(6839): 810-813.
- Savey, M., P. Belli, et al. (1991). "Le réseau d'épidémiosurveillance de la BSE en France : principes - premiers résultats." Epidémiologie et Santé Animale **19**: 49-61.
- Smits, M. A., A. Bossers, et al. (1997). "Prion protein and scrapie susceptibility." Vet Q **19**(3): 101-105.
- Stringer, S. M., N. Hunter, et al. (1998). "A mathematical model of the dynamics of scrapie in a sheep flock." Math Biosci **153**(2): 79-98.
- Tabouret, G., C. Lacroux, et al. (2010). "Relevance of oral experimental challenge with classical scrapie in sheep." J Gen Virol **91**(Pt 8): 2139-2144.
- Tongue, S. C., P. Webb, et al. (2005). "Prevalence of scrapie infection in cull animals from 14 scrapie-affected flocks in Great Britain." Vet Rec **157**(16): 480-482.
- Tongue, S. C., J. W. Wilesmith, et al. (2004). "Frequencies of prion protein (PrP) genotypes and distribution of ages in 15 scrapie-affected flocks in Great Britain." Vet Rec **154**(1): 9-16.
- Touzeau, S., M. E. Chase-Topping, et al. (2006). "Modelling the spread of scrapie in a sheep flock: evidence for increased transmission during lambing seasons." Arch Virol **151**(4): 735-751.
- Tuo, W., K. I. O'Rourke, et al. (2002). "Pregnancy status and fetal prion genetics determine PrPSc accumulation in placentomes of scrapie-infected sheep." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(9): 6310-6315.

- van Keulen, L. J., B. E. Schreuder, et al. (2000). "Pathogenesis of natural scrapie in sheep." Arch Virol Suppl(16): 57-71.
- van Keulen, L. J., M. E. Vromans, et al. (2002). "Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep." APMIS **110**(1): 23-32.
- Webb, C. R., J. W. Wilesmith, et al. (2001). "A stochastic model to estimate the prevalence of scrapie in Great Britain using the results of an abattoir-based survey." Prev Vet Med **51**(3-4): 269-287.
- Wells, G. A., A. C. Scott, et al. (1987). "A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle." Vet Rec **121**(18): 419-420.
- Westaway, D., V. Zuliani, et al. (1994). "Homozygosity for prion protein alleles encoding glutamine-171 renders sheep susceptible to natural scrapie." Genes Dev **8**(8): 959-969.
- WHO (2010). "WHO Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies."
- Wilesmith, J., G. Wells, et al. (1988). "Bovine spongiform encephalopathy:epidemiological studies." Veterinary Record **123**: 638-644.
- Wilesmith, J. W., J. B. Ryan, et al. (1992). "Bovine spongiform encephalopathy: case-control studies of calf feeding practices and meat and bonemeal inclusion in proprietary concentrates." Res Vet Sci **52**(3): 325-331.
- Will, R. G., J. W. Ironside, et al. (1996). "A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK." The Lancet **347**(9006): 921-925.
- Williams, E. S. and S. Young (1980). "Chronic wasting disease of captive mule deer: a spongiform encephalopathy." J Wildl Dis **16**(1): 89-98.
- Wineland, N. E., L. A. Detwiler, et al. (1998). "Epidemiologic analysis of reported scrapie in sheep in the United States: 1,117 cases (1947-1992)." J Am Vet Med Assoc **212**(5): 713-718.
- Wood, J. L., L. J. Lund, et al. (1992). "The natural occurrence of scrapie in moufflon." Vet Rec **130**(2): 25-27.
- Woolhouse, M. E., L. Matthews, et al. (1999). "Population dynamics of scrapie in a sheep flock." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **354**(1384): 751-756.

## ANNEXE A

### Règlementation nationale (Arrêté du 27 janvier 2003 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine)

Suite à la suspicion d'EST, la réglementation nationale prévoit que le troupeau d'origine de l'animal suspect, ou les troupeaux, au cas où ce dernier a transité par différentes exploitations, soi(en)t placé(s) sous un arrêté préfectoral de mise sous surveillance (APMS). L'APMS prévoit essentiellement le **blocage de l'exploitation le temps que la suspicion soit levée ou confirmée par les examens pratiqués au LNR**. L'ensemble des troupeaux faisant l'objet de mesures de contrôle suite à la découverte d'un même cas index correspond à un foyer unique, identifié par un numéro.

Lorsque la suspicion est confirmée, deux situations peuvent se présenter selon que le cas était sédentaire ou « nomade ».

- Cas d'un animal sédentaire

**L'abattage sanitaire est appliqué lorsque le cas est considéré comme sédentaire**, c'est-à-dire qu'il a quitté son exploitation de naissance depuis moins de six mois et y a séjourné toute sa vie. L'exploitation de naissance est placée sous arrêté préfectoral portant déclaration d'infection (APDI). L'APDI prévoit les mesures principales suivantes (Arrêté, du 27 janvier 2003) :

- **l'interdiction de mouvement des animaux appartenant aux espèces sensibles,**

- **le recensement, le marquage et le génotypage des ovins** aux trois codons 136, 154 et 171 du gène PRNP,

- **l'abattage dans un délai d'un mois des animaux sensibles** au sens de la réglementation, à savoir :

pour les mâles, tous les génotypes sauf ARR/ARR,

pour les femelles, les génotypes VRQ/VRQ, VRQ/ARQ, VRQ/ARH, VRQ/AHQ, VRQ/ARR, ARQ/ARQ, ARH/ARH, AHQ/AHQ, ARQ/AHQ, ARQ/ARH

les résistants et les animaux de moins de 3 mois ne sont pas abattus et leurs produits sont livrables à la consommation après retrait des tissus à risque (MRS + tête entière + intestins entiers).

- une dérogation peut être obtenue pour différer d'au maximum deux campagnes d'agnelage l'abattage des femelles non porteuses d'allèle VRQ,

- **l'obligation de repeupler avec des animaux ARR/ARR pendant une durée d'un an après la levée de l'APDI.**

La levée de l'APDI est conditionnée à l'**application de mesures de nettoyage et de désinfection des locaux**, cependant aucun protocole n'est recommandé. L'agent infectieux de la tremblante est sensible à un traitement d'une heure à la soude molaire ou un traitement à l'eau de javel à 2,5% pendant une heure (Taylor, 2000; Taylor, 2004) mais de tels procédés sont difficilement applicables en pratique.

Par ailleurs l'APDI s'accompagne d'une part de la **recherche des animaux appartenant à la cohorte de naissance du cas**, c'est-à-dire ayant côtoyé celui-ci lorsqu'il était âgé de moins d'un an et qu'ils étaient eux-mêmes âgés de moins d'un an et, d'autre part, des animaux issus du cas si celui-ci était une femelle. Les élevages détenant des animaux appartenant à ces deux catégories sont placés sous APMS. Cet APMS prévoit que ces animaux potentiellement exposés soient génotypés et que les animaux sensibles soient euthanasiés et testés.

En cas de résultat positif confirmé, l'élevage détenteur est placé sous APDI, sinon l'APMS est levé.

- Cas d'un animal nomade : surveillance renforcée

La surveillance renforcée est appliquée lorsque le cas est considéré comme nomade, c'est à dire s'il a quitté l'exploitation de naissance depuis plus de six mois. Dans ce cas, l'exploitation de naissance et toutes les exploitations dans lesquelles il a mis bas sont placées sous APMS de suivi.

L'APMS prévoit les mesures principales suivantes (Arrêté, du 27 janvier 2003) :

- la déclaration de mouvements des animaux appartenant aux espèces sensibles ;
- le dépistage EST systématique des animaux abattus ou trouvés morts ;
- la levée de l'APMS au bout de trois ans si aucun cas supplémentaire n'a été confirmé ;

Si un cas supplémentaire est dépisté, un nouvel APMS est pris ou l'élevage est placé sous APDI selon l'origine du cas.

### **Règlementation européenne (Règlement (EC) 999/2001)**

En premier lieu, il est à noter que ces dernières dispositions relatives à un animal nomade ne sont pas prévues par la réglementation européenne.

En ce qui concerne l'animal sédentaire Au niveau communautaire, les animaux de plus de 18 mois sont soumis à un test et les négatifs sont livrables à la consommation humaine. En l'absence de réglementation claire concernant le lait, la livraison pour la consommation humaine est rendue possible.

***ANNEXE B: FREQUENCE ALLELIQUE DANS ET HORS NOYAU DE SELECTION AVANT LA SELECTION SUR PRP (MALES ET FEMELLES AVAIENT LES MEMES FREQUENCES)***

*COMMUNICATION PERSONNELLE DE CAROLE MORENO, SAGA, INRA TOULOUSE (JANVIER 2007)*

	Berrichon du Cher	Blanc du Massif Central	Causse du Lot	Charollais	Grivette	Ile de France	Inra401	Lacaune Viande	Noire du Velay	Rouge de l'ouest	Suffolk	Tarasconnais	Texel	Vendéen
<b>Code race</b>	6	24	28	2	39	1	64	10	19	43	13	44	12	41
<b>ARR</b>	81,0%	24,9%	20,1%	39,2%	42,6%	76,2%	43,9%	52,7%	22,6%	63,8%	68,7%	33,7%	29,2%	18,9%
<b>AHQ</b>	5,5%	3,8%	18,1%	0,0%	0,0%	0,0%	5,1%	2,2%	0,0%	0,0%	0,4%	3,2%	6,8%	0,0%
<b>ARQ</b>	10,7%	62,3%	54,0%	43,8%	55,6%	11,4%	43,9%	36,5%	73,0%	28,4%	29,0%	62,2%	56,7%	78,8%
<b>VRQ</b>	2,8%	9,1%	7,8%	17,0%	1,8%	12,4%	7,1%	8,7%	4,4%	7,7%	1,9%	0,9%	7,3%	2,2%

	Basco Béarnaise	Lacaune, lait	MTN	MTR
<b>Code race</b>	30L	10L	52L	53L
<b>ARR</b>	32,9%	63,7%	45,8%	25,7%
<b>AHQ</b>	0,1%	1,2%	1,1%	0,5%
<b>ARQ</b>	66,9%	34,3%	52,8%	71,2%
<b>VRQ</b>	0,1%	0,7%	0,3%	2,6%



## ANNEXE C

### OPTION MAXIMALE

#### 1-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (0-3M)

Tissus	0M			2M				3M			
	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log
Cerveau	0	0,0E+00	0,0	80	0	0,0E+00	0,0	100	0	0,0E+00	0,0
Moelle épinière	0	0,0E+00	0,0	30	0	0,0E+00	0,0	60	0	0,0E+00	0,0
Système nerveux périphérique	0	0,0E+00	0,0	25	0	0,0E+00	0,0	50	0	0,0E+00	0,0
Tonsilles palatines	0	0,0E+00	0,0	1	0,1	1,6E+00	0,4	3	0,5	3,7E+02	2,6
Formations lymphoïdes de la tête	0	0,0E+00	0,0	14	0,2	8,3E+01	1,9	27	0,5	3,4E+03	3,5
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	0	0,0E+00	0,0	15	0,1	2,4E+01	1,4	50	0,25	5,1E+02	2,7
Thymus	0	0,0E+00	0,0	20	0,1	1,3E+01	1,2	80	0,25	2,0E+02	2,3
Rate	0	0,0E+00	0,0	50	0	0,0E+00	0,0	100	0,3	2,1E+03	3,3
Formations lymphoïdes des membres	0	0,0E+00	0,0	20	0	0,0E+00	0,0	50	0,1	8,2E+01	1,9
GALT iléal	0	0,0E+00	0,0	60	0,2	4,6E+02	2,7	150	0,6	9,9E+04	5,0
GALT autres	0	0,0E+00	0,0	5	0,1	9,8E+00	1,0	20	0,3	4,9E+02	2,7
Muscle squelettique	0	0,0E+00	0,0	2000	0	0,0E+00	0,0	3500	0	0,0E+00	0,0

**OPTION MAXIMALE**

**2-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (6-12M)**

Tissus	0M				2M				3M			
	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log
Cerveau	150	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	200	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	200	0,1	<b>5,3E+02</b>	<b>2,7</b>
Moelle épinière	75	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	100	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	100	0,1	<b>2,5E+02</b>	<b>2,4</b>
Système nerveux périphérique	50	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	70	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	80	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
Tonsilles palatines	6	1	<b>9,5E+04</b>	<b>5,0</b>	40	1	<b>6,3E+05</b>	<b>5,8</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
Formations lymphoïdes de la tête	54	1	<b>8,6E+05</b>	<b>5,9</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>
Thymus	80	1	<b>1,3E+04</b>	<b>4,1</b>	60	1	<b>9,4E+03</b>	<b>4,0</b>	50	1	<b>7,9E+03</b>	<b>3,9</b>
Rate	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>
Formations lymphoïdes des membres	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
GALT iléal	150	1	<b>7,5E+06</b>	<b>6,9</b>	100	1	<b>5,0E+06</b>	<b>6,7</b>	80	1	<b>4,0E+06</b>	<b>6,6</b>
GALT autres	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>
Muscle squelettique	10000	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	14000	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	15000	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>

**OPTION MAXIMALE**

**3-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (13-30M)**

Tissus	13M				21M				30M			
	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log
Cerveau	200	0,55	<b>2,4E+05</b>	<b>5,4</b>	200	1	<b>8,0E+07</b>	<b>7,9</b>	200	1	<b>8,0E+07</b>	<b>11,5</b>
Moelle épinière	100	0,55	<b>9,3E+04</b>	<b>5,0</b>	100	1	<b>2,5E+07</b>	<b>7,4</b>	100	1	<b>2,5E+07</b>	<b>10,5</b>
Système nerveux périphérique	80	0,1	<b>8,3E+01</b>	<b>1,9</b>	80	0,5	<b>2,8E+03</b>	<b>3,4</b>	80	1	<b>1,0E+05</b>	<b>5,0</b>
Tonsilles palatines	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
Formations lymphoïdes de la tête	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>	150	1	<b>2,4E+06</b>	<b>6,4</b>
Thymus	45	1	<b>7,1E+03</b>	<b>3,9</b>	20	1	<b>3,1E+03</b>	<b>3,5</b>	15	1	<b>2,4E+03</b>	<b>3,4</b>
Rate	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>	300	1	<b>9,5E+06</b>	<b>7,0</b>
Formations lymphoïdes des membres	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>	60	1	<b>9,5E+05</b>	<b>6,0</b>
GALT iléal	60	1	<b>3,0E+06</b>	<b>6,5</b>	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>	15	1	<b>7,5E+05</b>	<b>5,9</b>
GALT autres	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>	20	1	<b>1,0E+06</b>	<b>6,0</b>
Muscle squelettique	16000	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	20000	0,2	<b>3,3E+04</b>	<b>4,5</b>	20000	1	<b>2,5E+06</b>	<b>6,4</b>

**4-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50/g) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ AU STADE CLINIQUE DE LA TREMBLANTE CLASSIQUE**

<b>Tissus</b>	
	Phase clinique de la tremblante classique, ID50IC/C57Bl6, gramme
<b>Cerveau</b>	<b>5,60</b>
<b>Moelle épinière</b>	<b>5,40</b>
<b>Système nerveux périphérique</b>	<b>3,10</b>
<b>Tonsilles palatines</b>	<b>4,20</b>
<b>Formations lymphoïdes de la tête</b>	<b>4,20</b>
<b>Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques</b>	<b>4,20</b>
<b>Thymus</b>	<b>2,20</b>
<b>Rate</b>	<b>4,50</b>
<b>Formations lymphoïdes des membres</b>	<b>4,20</b>
<b>GALT iléal</b>	<b>4,70</b>
<b>GALT autres</b>	<b>4,70</b>
<b>Muscle squelettique</b>	<b>2,10</b>

## **ANNEXE D**

### **OPTION MINIMALE**

#### **1-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (0-3M)**

<b>Tissus</b>	<b>0M</b>			<b>2M</b>			<b>3M</b>				
	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57Bl6	ID50IC/ C57B16, log
<b>Cerveau</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Moelle épinière</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Système nerveux périphérique</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Tonsilles palatines</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Formations lymphoïdes de la tête</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Thymus</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Rate</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Formations lymphoïdes des membres</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>GALT iléal</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>GALT autres</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
<b>Muscle squelettique</b>	0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>

**OPTION MINIMALE**

**2-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (6-12M)**

Tissus	0M				2M				3M			
	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log
Cerveau		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
Moelle épinière		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
Système nerveux périphérique		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
Tonsilles palatines	3	0,5	<b>3,7E+02</b>	<b>2,6</b>	15	1	<b>2,4E+05</b>	<b>5,4</b>	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>
Formations lymphoïdes de la tête	29	0,5	<b>3,6E+03</b>	<b>3,6</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	50	0,25	<b>5,1E+02</b>	<b>2,7</b>	50	1	<b>7,9E+05</b>	<b>5,9</b>	50	1	<b>7,9E+05</b>	<b>5,9</b>
Thymus	20	0,25	<b>5,1E+01</b>	<b>1,7</b>	15	1	<b>2,4E+03</b>	<b>3,4</b>	15	1	<b>2,4E+03</b>	<b>3,4</b>
Rate	100	0,3	<b>2,1E+03</b>	<b>3,3</b>	100	1	<b>3,2E+06</b>	<b>6,5</b>	100	1	<b>3,2E+06</b>	<b>6,5</b>
Formations lymphoïdes des membres	20	0,1	<b>3,3E+01</b>	<b>1,5</b>	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>
GALT iléal	60	0,6	<b>4,0E+04</b>	<b>4,6</b>	10	1	<b>5,0E+05</b>	<b>5,7</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>
GALT autres	5	0,3	<b>1,2E+02</b>	<b>2,1</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>
Muscle squelettique		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>

**OPTION MAXIMALE**

**3-CHARGE INFECTIEUSE (LOGMICLD50) DANS LES TISSUS D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ EN FONCTION DE L'AGE (13-30M)**

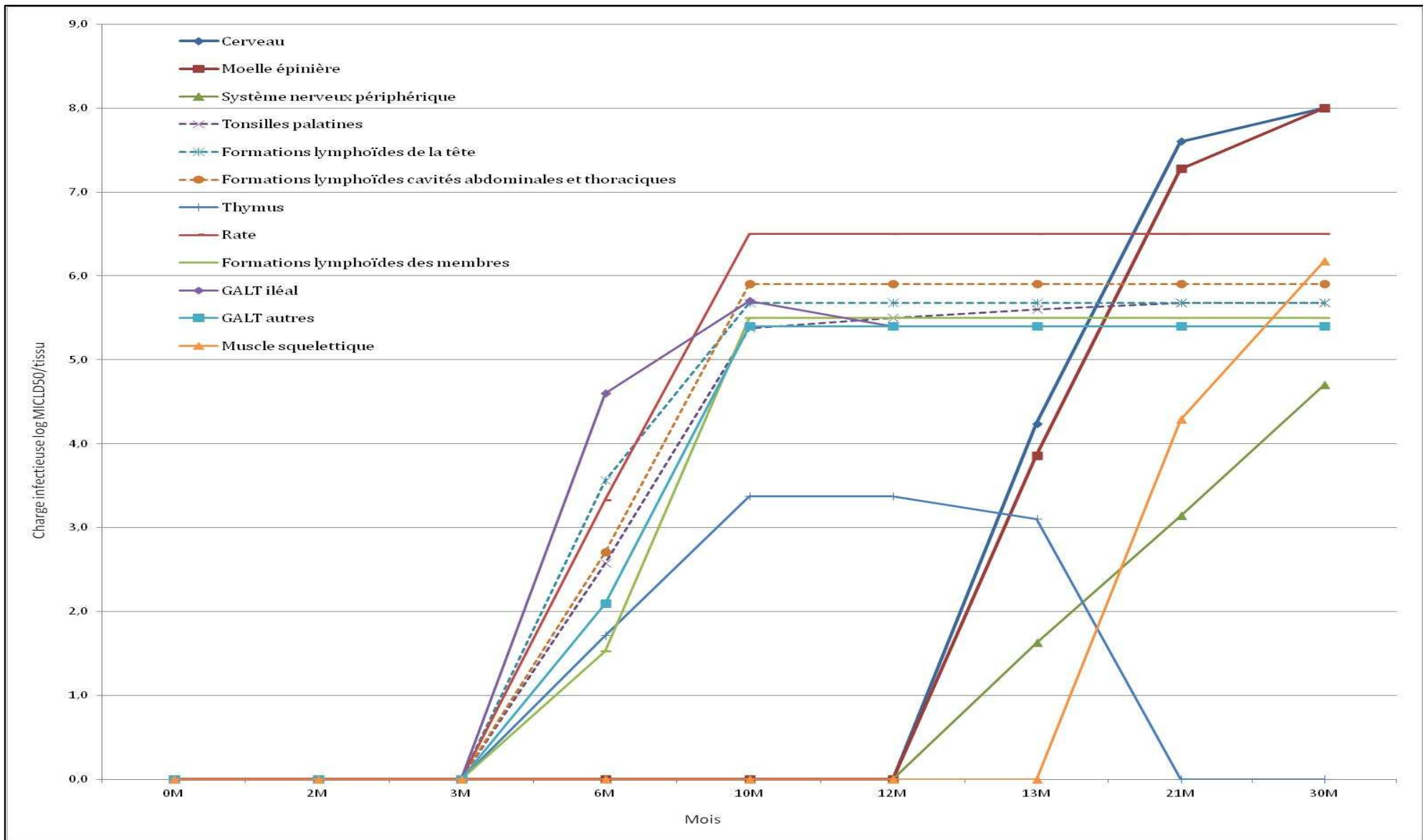
Tissus	13M				21M				30M			
	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log	Masse	%Titre final clinique	ID50IC/ C57BI6	ID50IC/ C57B16, log
Cerveau	100	0,4	<b>1,7E+04</b>	<b>4,2</b>	100	1	<b>4,0E+07</b>	<b>7,6</b>	100	1	<b>4,0E+07</b>	<b>11,5</b>
Moelle épinière	50	0,4	<b>7,2E+03</b>	<b>3,9</b>	75	1	<b>1,9E+07</b>	<b>7,3</b>	75	1	<b>1,9E+07</b>	<b>10,5</b>
Système nerveux périphérique	40	0,1	<b>4,2E+01</b>	<b>1,6</b>	40	0,5	<b>1,4E+03</b>	<b>3,1</b>	40	1	<b>5,0E+04</b>	<b>4,7</b>
Tonsilles palatines	25	1	<b>4,0E+05</b>	<b>5,6</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>
Formations lymphoïdes de la tête	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>	30	1	<b>4,8E+05</b>	<b>5,7</b>
Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques	50	1	<b>7,9E+05</b>	<b>5,9</b>	50	1	<b>7,9E+05</b>	<b>5,9</b>	50	1	<b>7,9E+05</b>	<b>5,9</b>
Thymus	8	1	<b>1,3E+03</b>	<b>3,1</b>	0	1	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	0	1	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>
Rate	100	1	<b>3,2E+06</b>	<b>6,5</b>	100	1	<b>3,2E+06</b>	<b>6,5</b>	100	1	<b>3,2E+06</b>	<b>6,5</b>
Formations lymphoïdes des membres	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>	20	1	<b>3,2E+05</b>	<b>5,5</b>
GALT iléal	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>
GALT autres	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>	5	1	<b>2,5E+05</b>	<b>5,4</b>
Muscle squelettique		0	<b>0,0E+00</b>	<b>0,0</b>	12000	0,2	<b>2,0E+04</b>	<b>4,3</b>	12000	1	<b>1,5E+06</b>	<b>6,2</b>

***ANNEXE E: RESULTATS POUR LES VALEURS BASSES DES DONNEES DE L'EFSA ((EFSA-Q-2010-0052 2010) :***

***EVOLUTION EN FONCTION DE L'AGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE PAR TISSU OVIN EN LOGMICLD50 (OPTION MINIMALE) POUR DES INDIVIDUS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ***

	<b>MOIS</b>	<b>0M</b>	<b>2M</b>	<b>3M</b>	<b>6M</b>	<b>10M</b>	<b>12M</b>	<b>13M</b>	<b>21M</b>	<b>30M</b>
<b>Cerveau</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	5,4	7,9	8,0
<b>Moelle épinière</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	5,0	7,4	8,0
<b>Système nerveux périphérique</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	3,4	5,0
<b>Tonsilles palatines</b>		0,0	0,4	2,6	5,0	5,8	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Formations lymphoïdes de la tête</b>		0,0	1,9	3,5	5,9	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Formations lymphoïdes cavités abdominales et thoraciques</b>		0,0	1,4	2,7	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
<b>Thymus</b>		0,0	1,2	2,3	4,1	4,0	3,9	3,9	3,5	3,4
<b>Rate</b>		0,0	0,0	3,3	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
<b>Formations lymphoïdes des membres</b>		0,0	0,0	1,9	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>GALT iléal</b>		0,0	2,7	5,0	6,9	6,7	6,6	6,5	6,0	5,9
<b>GALT autres</b>		0,0	1,0	2,7	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Muscle squelettique</b>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	6,4





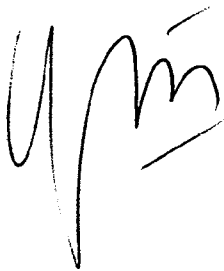
*EVOLUTION EN FONCTION DE L'ÂGE DE LA CHARGE INFECTIEUSE A LA TREMBLANTE CLASSIQUE POUR LES DIFFERENTS TISSUS INFECTES D'OVINS PORTEURS DE L'ALLELE VRQ*

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**


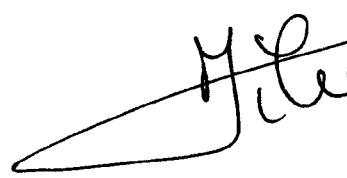
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, **Hubert BRUGERE**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Stéphane LARRECHE** intitulée « *Analyse des mesures de protection du consommateur français de viande ovine adoptées par la France vis-à-vis de la tremblante classique et complémentaires aux mesures prévues par l'Union européenne.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance

Fait à Toulouse, le 17 Décembre 2012  
Docteur **Hubert BRUGERE**  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



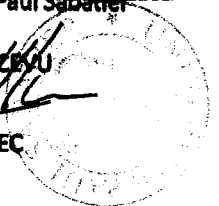
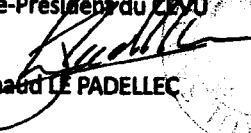
Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur **Alain MILON**



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur **Thierry LANG**



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
**Paul Sabatier**  
**Professeur Bertrand MONTUBERT**  
Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation,  
Le vice-Président du CEVU  
**Arnaud LE PADELLEC**



**M. Stéphane LARRECHE**  
a été admis(e) sur concours en : 2007  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 30/06/2011  
a validé son année d'approfondissement le : 25/09/2012  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

**Auteur/ Author :** Stéphane LARRECHE

**TITRE :** Analyse des mesures de protection du consommateur français de viande ovine adoptées par la France vis-à-vis de la tremblante classique et complémentaires aux mesures prévues par l'Union européenne.

**RESUME :** La Tremblante est une maladie neuro-dégénérative et toujours fatale, connue chez les petits ruminants depuis le 18ème siècle, associée à une forme anormale de la protéine prion. Elle appartient au groupe des Encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST), au même titre que l'Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), associée à la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jacob chez l'homme. Alors que le caractère zoonotique de l'ESB est reconnu, il n'y a pas à ce jour de résultats épidémiologiques formels permettant d'établir le caractère zoonotique de la tremblante. Toutefois, par principe de précaution et faisant suite au contexte de l'ESB, des mesures ont été rendues obligatoires au niveau communautaire (règlement (CE) n°999/2001). La France a souhaité maintenir des mesures plus strictes. Par une approche quantitative, la présente étude évalue le bien fondé des mesures françaises par rapport aux mesures européennes au regard de la tremblante classique chez les individus sensibles (VRQ/VRQ), nés, élevés et abattus en France. A partir de la charge infectieuse sur une carcasse, une comparaison de l'impact des mesures européennes et françaises est réalisée. Le critère de jugement est la réduction de l'infectiosité susceptible d'entrer dans la chaîne alimentaire. Le modèle intègre le retrait des matériels à risque spécifiés (MRS) et la police sanitaire qui sont les principales mesures visant à protéger le consommateur et à réduire la circulation de la maladie dans le cheptel ovin. Le dispositif français de retrait des MRS apporte une réduction supplémentaire de 10% de l'infectiosité de la carcasse par rapport à celui prévu dans la réglementation communautaire. Dans le contexte actuel de surveillance, les mesures françaises de police sanitaire quant à elles apporte une réduction supplémentaire de 8% de cette infectiosité. Cette plus-value des mesures françaises de police sanitaire est d'autant plus importante que le système de surveillance à l'abattoir et à l'équarrissage est sensible et apte à détecter les troupeaux infectés.

**Mots-clefs:** Tremblante classique, EST, petits ruminants, ovin, MRS, police sanitaire

\*\*\*\*\*

**TITRE:** Comparative analysis of French vs. European Union precautionary measures regarding classical Scrapie with respect to the consumers in France of ovine meat.

**ABSTRACT:** Scrapie is a fatal and degenerative disease affecting small ruminants and well known since the 18<sup>th</sup> century. It belongs to the group of Transmissible Spongiform Encephalopathy's (TSE), such as BSE (Bovine spongiform encephalopathy), associated with the new variant of the Creutzfeldt-Jakob disease in humans. While BSE's zoonotic potential is admitted, there is no such scientific evidence about scrapie, yet the risk cannot be excluded. In the context of the "mad cow disease" crisis, some precautionary measures under the regulation (EC) n°999/2001 aimed at initially controlling and eradicating BSE in all member states and included TSE's in small ruminants. France has implemented more stringent measures against TSE's in small ruminants. The development of a quantitative model aims at estimating the infectivity potentially entering the food chain. It is based on the integration and comparison of the various components of those measures: Specified Risk Material (SRM) removal at slaughterhouse preventing the exposure of human consumer to infectious materials and culling of genetically susceptible individuals to limit circulation of the agent with flocks. The infectious load associated to a carcass is estimated by age category for individuals carrying the VRQ allele. Three scenarios are considered (no intervention; one carcass coming from an infected and undetected flock; one carcass coming from an infected and detected flock). SRM removal list applies at slaughterhouse to any animal entering the food chain. The reduction of infectivity from the removal of the French SRM list is 10% higher than the reduction from the European SRM list. When the current surveillance program at slaughterhouse and rendering plant, estimated at 10%, manages to detect an infected flock, additional control measures apply to it (extended list of SRM and flock control measures). An additional 8% benefit of the French measures is provided. This value rises significantly with the increase of the surveillance program sensitivity.

**Key words:** Classical Scrapie, TSE, sheep, small ruminants, SRM, control measures.