

C. DUCROT¹, J. CABARET²,
S. TOUZEAU³, D. ABRIAL¹, C. JACOB³,
H. QUIQUAMPOIX⁴, J. GROSCLAUDE⁵,
L. GRUNER²

¹ Unité d'Epidémiologie animale, INRA,
Site de Theix, F-63122 Saint-Genès-
Champanelle

² Unité Bioagresseurs, santé, environne-
ment, INRA, Centre de Tours, F-37380
Nouzilly

³ Unité de Mathématiques et
Informatique Appliquées, INRA,
Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy-en-
Josas Cedex

⁴ Unité Rhizosphère et Symbiose, INRA,
2 place Viala, F-34060 Montpellier
Cedex 1

⁵ Unité de Virologie et Immunologie
Moléculaires, INRA, Domaine de
Vilvert, F-78352 Jouy-en-Josas Cedex

Courriel : ducrot@clermont.inra.fr

Épidémiologie de la tremblante et de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine en France

Introduction

Si les sources principales de tremblante et d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) sont connues et ont fait l'objet de mesures réglementaires (entre autres, suppression des cadavres et abats à risque de la fabrication des farines animales depuis 1996, interdiction d'utiliser des farines animales dans l'alimentation des bovins (1990), des petits ruminants (1994) et des espèces monogastriques (2000), et contrôle des échanges

pour les troupeaux de petits ruminants atteints), différentes questions restent ouvertes concernant le maintien des agents des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST) dans l'environnement et l'existence d'autres voies de transmission. En effet, l'agent des encéphalopathies spongiformes est extrêmement résistant et pourrait dans certaines circonstances persister dans le milieu extérieur; en outre, en matière d'ESB, les mesures de contrôle actuelles ne suffisent pas à maîtriser totalement la transmission de la maladie. Aussi, divers travaux sont en cours sur ces questions, basés sur des études de terrain, des travaux expérimentaux et des modèles mathématiques.

Résumé

Après avoir brossé un tableau des connaissances actuelles sur les sources de contamination et les voies de transmission des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST), l'article présente l'éventail des travaux réalisés à l'INRA sur la résistance de l'agent pathogène dans le milieu extérieur, les sources d'infection, les voies de transmission et la dynamique de la maladie dans les populations animales, en matière de tremblante et d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB). Ces travaux sont menés en collaboration avec de nombreuses équipes nationales et internationales, à travers des projets scientifiques nationaux et européens. Trois approches complémentaires sont poursuivies. Des travaux expérimentaux portent sur la rémanence et la dispersion de la protéine prion dans le sol, ainsi que sur le rôle possible des nématodes parasites dans la contamination des animaux. Des études épidémiologiques de terrain sont conduites pour analyser les facteurs de transmission de la tremblante, relatifs aux rongeurs, acariens du foin, parasites, pratiques d'élevage au sens large et voisinage, et de l'ESB, focalisées sur le rôle de l'alimentation. Enfin, divers modèles mathématiques basés sur les données de terrain permettent de simuler le devenir à long terme des épidémies de tremblante et d'ESB selon différents scénarii, ou de tester certaines hypothèses biologiques quant aux sources de contamination. Les encadrés apportent des éclairages et des résultats sur plusieurs de ces études.

1 / État des connaissances

1.1 / Sources d'infection et modes de transmission

La tremblante des petits ruminants et l'ESB chez les bovins ont des modes de transmission en partie différents du fait de la distribution de l'agent pathogène dans l'organisme de ces différentes espèces. Chez les bovins, l'agent de l'ESB a une diffusion restreinte au système nerveux central et à la porte d'entrée du prion pathologique dans l'organisme (les plaques de Peyer de l'intestin) (Baron et

Madec 1996). Pour cette raison, l'agent de l'ESB n'est pas diffusé à l'extérieur de l'organisme malade, et la principale voie de transmission de cette maladie est l'ingestion de produits contaminés par l'agent de l'ESB, au premier rang desquels les farines de viande et d'os fabriquées à partir de carcasses contaminées. Une voie secondaire possible est la transmission de la mère au fœtus (Wilesmith *et al* 1997), et aucune autre voie n'a à ce jour été suspectée. Chez les petits ruminants, à l'inverse, l'agent de la tremblante a une diffusion large dans l'organisme comprenant, d'une manière synthétique, le système nerveux, les formations lymphoïdes disséminées dans l'organisme (entre autres amygdales), et les enveloppes fœtales (Hoinville 1996 ; Schelcher *et al* 1996 ; Detwiler *et al* 2003). De ce fait, l'agent de la tremblante est relargué dans le milieu extérieur, ce qui se traduit par différentes voies de transmission possibles, la voie d'entrée dans l'organisme étant orale. Une part importante des contaminations semble avoir lieu en période néonatale.

Très peu de travaux ont jusqu'à présent porté sur l'estimation des risques environnementaux liés aux conséquences d'une contamination des sols par les agents des EST, qu'elle puisse être naturelle (contamination des sols de pâturages) ou accidentelle (risques liés au stockage des farines animales). Pourtant, il a été montré que le pouvoir infectieux de l'agent de la tremblante du mouton peut se maintenir pendant au moins trois ans dans les sols (Brown et Gajdusek 1991).

Le relargage de l'agent de la tremblante dans le milieu extérieur pose ainsi la question de la persistance de cet agent dans le milieu extérieur, qui pourrait être à l'origine de la recontamination de troupeaux. De manière équivalente, la fabrication, le transport et le stockage de farines de viande et d'os contaminées par des prions sous leur forme pathologique, entre autres l'agent de l'ESB, posent des questions sur l'éventualité d'un maintien de cet agent pathogène dans le milieu extérieur.

1.2 / Efficacité des mesures de lutte

Différentes mesures de lutte contre ces maladies ont été mises en place et ont montré une efficacité relative. En matière de tremblante, des mesures de contrôle draconiennes ont été utilisées à large échelle en Islande (Sigurdarson 1991). Elles reposent sur la destruction du troupeau, la non-utilisation de la récolte de foin pendant deux ans, un nettoyage et une désinfection rigoureux pouvant aller jusqu'à la destruction des bâtiments en bois dans certains cas, le recouvrement des objets en contact avec les animaux par de la peinture, l'élimination du sol de surface aux alentours de la bergerie, un vide sanitaire de deux ans et le repeuplement avec des animaux provenant de zones indemnes de tremblante (Ducrot et Calavas 2002). Ces mesures, effectuées sur plus de 500 troupeaux (don-

nées 1998) ont montré un taux de récurrence de l'ordre de 5 % dans les deux années suivant le repeuplement, suggérant un entretien de l'agent dans le milieu extérieur.

En matière d'ESB, l'interdiction des farines animales décrétée au Royaume-Uni en 1988 s'est traduite par une décroissance spectaculaire de l'épidémie cinq ans plus tard, à partir de 1993, montrant par là même le bien-fondé de cette mesure ; néanmoins, ces mesures n'ont pas permis de contrôler complètement la transmission puisque des cas existent toujours sur des animaux nés après la mise en place des mesures de contrôle. En France, en date du 1^{er} juillet 2003, 752 cas d'ESB ont été découverts sur des animaux nés après la mise en place de l'interdiction des farines animales dans l'alimentation des bovins en 1990, nommés NAIF. Les enquêtes approfondies menées par la Brigade d'Enquêtes Vétérinaires et Sanitaires (Direction Générale de l'Alimentation, DGAL) ont montré l'existence de contaminations des aliments destinés aux bovins par des aliments destinés aux monogastriques dans lesquels étaient incorporées des farines de viande et d'os (DGAL 2000). Malgré un renforcement des mesures de contrôle en juin 1996, qui ont consisté à supprimer de la fabrication des farines animales les cadavres et matériaux à risque (encéphale, moelle épinière, yeux, etc.), des cas d'ESB sont aussi apparus sur des animaux nés après ces mesures, nommés super NAIF.

2 / Travaux développés à l'INRA

Diverses études sont mises en œuvre à l'INRA pour approfondir nos connaissances sur les sources d'infection, les voies de transmission et la dynamique de la maladie dans les populations animales. Une partie importante des travaux concerne la tremblante, sur laquelle l'INRA fait porter ses recherches depuis une dizaine d'années, mais aussi l'ESB. Ces travaux sont menés en concertation entre une dizaine d'équipes INRA, incluant généticiens, parasitologues, infectiologues, anatomopathologistes, écologues, épidémiologistes, biométriciens, en collaboration avec des équipes d'autres organismes français et étrangers (Université d'Édimbourg, Royaume-Uni ; AFSSA, France, et les consortia de deux projets européens, Sheeprion et TSE-soil-fate) (encadré 1). Trois approches complémentaires sont poursuivies : des travaux expérimentaux, des études épidémiologiques de terrain et la mise en œuvre de modèles mathématiques.

2.1 / Travaux expérimentaux

L'épidémie de tremblante de l'unité expérimentale de Langlade a démarré en 1993 chez des brebis infestées expérimentalement par un nématode parasite. Afin d'étudier le rôle possible des nématodes parasites dans la contamination des animaux, des expériences d'infestation d'ovins génétiquement sensibles par un nématode parasite ont été réalisées. L'infestation par les nématodes n'a pas eu de

Encadré 1. Partenaires.**Projet européen TSE-soil-fate (2002)**

- INRA :
 - Virologie et Immunologie Moléculaires (INRA, Jouy-en-Josas, France)
 - Rhizosphère et Symbiose (INRA-ENSAM, Montpellier, France)
 - Bioagresseurs, Santé et Environnement (INRA, Nouzilly, France)
- CNRS :
 - Laboratoire d'Ecologie Microbienne (CNRS-Université Lyon 1, Villeurbanne, France)
 - Laboratoire de Dynamique, Interactions et Réactivité (CNRS-Université Paris 6, Thiais, France)
 - Laboratoire des Matériaux Polymères et des Biomatériaux (CNRS-Université Lyon 1, Villeurbanne, France)
 - Institut Européen des Membranes (CNRS-Université Montpellier 2, Montpellier, France)
- Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale, Département d'Entomologie (IRCGN, Rosny-sous-Bois, France)
- AFSSA, Unité des Risques Biologiques (AFSSA, Maisons-Alfort, France)
- Institute of Animal Health, Neuropathogenesis Unit (IAH, Edinburgh, Royaume-Uni)
- Imperial College of Science, Technology and Medicine, Department of Environmental Science and Technology (ICSTM, Ascot, Royaume-Uni)
- Università di Napoli, Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente (UNINA, Naples, Italie)
- Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Genesi e l'Ecologia del Suolo (CNR, Florence, Italie)
- Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Department of Environmental Microbiology (GBF, Braunschweig, Allemagne)
- Moscow State University, Department of Soil Biology (MSU, Moscou, Russie)

Projet européen Sheeprion (1998)

- INRA :
 - Bioagresseurs, Santé et Environnement (Tours) Lucas Gruner, Jacques Cabaret
 - Pathologie Infectieuse et Immunologie (Tours) Frédéric Lantier, Pierre Sarradin
 - Station d'Amélioration Génétique des Animaux (Toulouse) Jean-Michel Elsen, Francis Barillet, Daniel Lajous, Francis Eychenne
 - Physiopathologie Infectieuse et Parasitaire des Ruminants-PIPR (INRA-ENVT, Toulouse) Olivier Andréoletti, Philippe Jacquiet, François Schelcher
 - Centre de biologie et de gestion des populations-CBGP (INRA-IRD-CNRS, Montpellier) Pierre Delattre, Jean-Pierre Quéré

Centre départemental de l'élevage ovin (CDEO)
Jean-Marc Arranz, Stephanie Minery

Institute for experimental pathology, University of Iceland, Reykjavik (Finlande) Thorkil Hallas, Bjarni Gudleifsson, Sigurdur Sirgurdasson

Neiker Detio (Espagne) Ana Garcia, Ramon Juste, I. Beltran de Heredia, I. Povedano

Autres collaborations

- Biométrie et Intelligence artificielle (INRA Jouy-en-Josas) : Chantal Guihenneuc, Marie-Laure Martin, Brigitte Schaeffer, Christine Jacob
- Epidémiologie animale (INRA Theix) : David Abrial, Séverine Bord, Christian Ducrot
- AFSSA, Unité Epidémiologie (Lyon) : Didier Calavas, Nathalie Jarrige
- Département de mathématiques, Faculté des sciences et techniques (Le Havre) : Pierre Magal
- Centre for Tropical Veterinary Medicine, Université d'Édimbourg (Royaume-Uni) : Mark Woolhouse, Margo Chase-Topping, Louise Matthews

rôle dans l'infection des ovins par la tremblante ; il semblerait néanmoins que la période d'incubation de la maladie ait été légèrement réduite. Une expérimentation complémentaire sur souris avait pour objet de préciser si un nématode du tube digestif pouvait favoriser l'infection par la tremblante, dans de meilleures conditions expérimentales que celles pratiquées pour l'animal cible ovin. Ces essais ont été cohérents avec les résultats sur les ovins : l'infestation par un nématode issu de souris atteintes par la tremblante n'a pas permis de reproduire la maladie. Le rôle des nématodes n'a donc pas été confirmé dans l'acquisition de la tremblante.

Plus récemment, une étude des principales composantes biotiques et abiotiques à l'origine de la rémanence ou de la dispersion de la protéine prion dans le sol a été mise en place (encadré 2) à travers un projet européen de trois ans concernant 15 équipes de cinq pays. Il a pour ambition d'analyser l'adsorption et la désorption de la protéine prion sur les constituants minéraux et organiques du sol, d'identifier les micro-organismes et les espèces animales capables de la dégrader ou de la transporter, et de reconstituer en conditions

expérimentales le devenir de cadavres dans le sol.

2.2 / Études de terrain**a / Tremblante**

En matière de tremblante, le programme européen « Sheeprion » visait à déterminer i) le rôle éventuel des nématodes parasites et des acariens du fourrage dans le développement de la tremblante, ii) dans quelle mesure certains rongeurs seraient réservoir de prion, et iii) les facteurs d'élevage favorisant l'apparition de cas dans les élevages.

Trente-trois exploitations ovines des Pyrénées-Atlantiques et dix du Pays Basque espagnol ont été suivies pendant trois ans, parmi lesquelles dix-sept ayant des cas de tremblante. Les données collectées dans ces fermes portaient sur les pratiques d'élevage et l'étude faunistique des nématodes parasites, des acariens du fourrage et des populations de rongeurs.

Les principaux résultats (encadré 3) sont que ni les nématodes (Gruner *et al* 2004) ni

Encadré 2. Devenir des prions dans le sol.

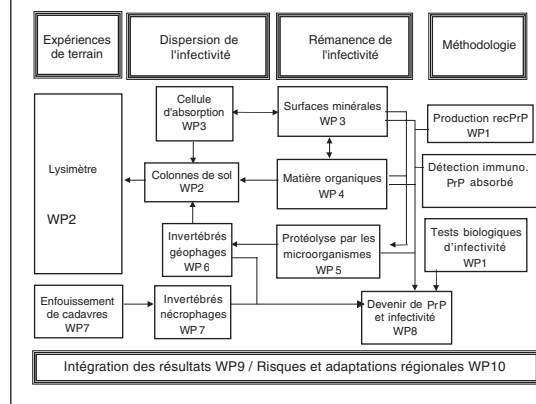
H. QUIQUAMPOIX et collaborateurs du Projet européen TSE-SOIL-FATE (voir encadré 1)

L'objectif général du contrat européen TSE-SOIL-FATE est d'étudier les principales composantes biotiques et abiotiques à l'origine de la rémanence ou de la dispersion dans le sol des prions. Le modèle retenu est le prion de la tremblante du mouton. Très peu de travaux ont jusqu'à présent porté sur l'estimation des risques environnementaux liés aux conséquences d'une contamination des sols par les prions, qu'elle puisse être naturelle (contamination des sols de pâturage) ou accidentelle (risques liés au stockage des farines animales). Pourtant, une étude précédente a montré que le pouvoir infectieux de l'agent de la tremblante du mouton pouvait se maintenir pendant au moins trois ans dans les sols (Brown et Gajdusek 1991).

En conséquence, de façon à estimer les risques de résurgence de la maladie par cette voie environnementale, l'objectif scientifique est de comprendre les mécanismes, de nature biotique ou abiotique, agissant sur la rémanence des prions dans des réservoirs minéraux, organiques ou biolo-

giques du sol, ainsi que les voies possibles de dissémination dans les sols et dans les eaux.

Le programme de travail s'articule autour de 10 parties (appelées WP pour Work Package), résumées sur le schéma. A côté d'expériences au champ ou de miniaturisations en laboratoire sous forme de colonnes de sols (WP2), l'essentiel des forces s'attache à modéliser le devenir des prions dans un compartiment particulier, minéral ou biologique, du sol. Une forme non pathogène de la protéine prion, mimant la forme pathologique considérée comme le convoyeur du pouvoir infectieux, sert de traceur pour explorer le devenir possible du prion à toutes les interfaces (WP1). Lorsque les paramètres clefs pour la rétention ou la dissémination de ce leurre auront été identifiés, des expériences ponctuelles avec un échantillon réellement infectieux seront effectuées pour confronter devenir de la protéine et devenir de l'agent infectieux (WP8). Sont ainsi mises en œuvre des techniques physiques avancées pour suivre l'adsorption et la désorption de la protéine leurre sur des argiles ou des sables (WP3), son piégeage par les acides humiques et les composants organo-minéraux (WP4), des techniques de biologie moléculaire pour identifier les bactéries du sol, libres (WP5) ou en symbiose avec les invertébrés géophages (WP6), capables de dégrader la protéine leurre, des techniques de traçage de la protéine dans les métamorphoses des insectes nécrophages (WP7) et de suivi de leurs populations par des entomologistes spécialistes des enquêtes criminelles sur cadavres. La complémentarité des résultats permettra de construire un modèle intégré de la dissémination des prions dans les sols (WP9), qui synthétisera les connaissances produites par ce projet en vue de l'élaboration de règles pratiques d'action et de prévention (WP10).



les rongeurs semblent n'avoir été impliqués dans la transmission de la tremblante dans les troupeaux étudiés. Certains acariens du fourrage pourraient en revanche avoir joué un rôle, mais l'étude ne peut permettre de conclure définitivement.

En parallèle avec cette étude, les mêmes exploitations atteintes de tremblante ont fait l'objet d'un suivi détaillé d'une cohorte d'agnelles, de manière à étudier les facteurs de risque de transmission de la tremblante aux nouveau-nés, relatifs aux pratiques d'élevage pendant la période d'agnelage. Un recul de trois ans ayant été nécessaire pour voir apparaître les cas de tremblante sur cette cohorte, l'analyse des données de cette étude complémentaire est en cours.

Par ailleurs, toujours en matière de tremblante, l'INRA est aussi impliqué dans une étude épidémiologique de type cas-témoins menée par l'AFSSA et destinée à étudier les facteurs favorisant la transmission de la tremblante d'une exploitation à l'autre. Cent cinquante exploitations atteintes de tremblante sont comparées à trois cents exploitations témoins choisies au hasard ; les facteurs étu-

diés concernent les achats et prêts de mâles et de femelles, la pratique de la transhumance et des parcours collectifs, le voisinage d'exploitations atteintes de tremblante et l'alimentation. Cette étude est en cours d'analyse.

b / Encéphalopathie Spongiforme Bovine

En matière d'ESB, l'INRA réalise avec l'AFSSA une étude épidémiologique financée par le Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) Infections à Prions, portant sur l'analyse du rôle des aliments dans la contamination des bovins NAIF (nés après l'interdiction des farines animales pour les bovins en 1990) atteints d'ESB. Plus précisément, deux hypothèses de contamination sont prises en compte : i) le rôle des farines de viande et d'os, via des « contaminations croisées » d'usine, de transport ou d'élevage ; ii) et celui de dérivés d'abattoir autorisés mais potentiellement contaminés lors des opérations d'abattage, les phosphates bicalciques précipités d'os et les graisses d'origine animale.

Deux approches sont utilisées en parallèle : une étude de type cas-témoins, comparant exploitations atteintes d'ESB et exploitations

Encadré 3. Rôle des nématodes parasites, acariens et rongeurs dans la transmission horizontale de la tremblante du mouton.

J. CABARET et collaborateurs du Projet européen Sheeprion (voir encadré 1)

L'épidémie de tremblante dans un des domaines de l'INRA (près de Toulouse) a démarré chez des brebis infestées expérimentalement par un nématode parasite ; par ailleurs, des acariens du foin se sont révélés vecteurs de prion en Islande, nombre de micro-rongeurs sont sensibles à une inoculation de broyat de cerveau atteint d'EST. Dans le cadre d'un programme européen, nos objectifs visaient à déterminer i) le rôle éventuel des nématodes parasites du tube digestif des ovins et des acariens du fourrage dans le développement de la tremblante, ii) dans quelle mesure certains rongeurs seraient réservoirs de prion, et iii) les facteurs d'élevage favorisant l'apparition de cas dans les élevages.

Trente-trois fermes des Pyrénées-Atlantiques dont 17 ayant des cas de tremblante, et 10 du Pays Basque espagnol ont servi de support pendant trois ans à des enquêtes de pratiques d'élevage et des études de faunistique des nématodes parasites, des acariens du fourrage et des populations de rongeurs. Des expériences d'infestation par un parasite d'ovins génétiquement sensibles et de souris par des acariens, ont complété ce dispositif ; la protéine PrPSc liée à la tremblante a été recherchée chez des vers parasites et chez des rongeurs. Les données ont été analysées avec des méthodes utilisées en phylogénie (évolution des organismes), qui tendent à reconstruire une histoire, en se fondant sur des hypothèses évolutives (caractère évolué ou non, changements d'état des caractères les moins fréquents possibles pour interpréter l'évolution). Des arbres évolutifs sont construits, dont les branches correspondent à des séries de fermes (appelées lignées historiques) (Cabaret 2003).

Nématodes : deux lignées historiques (33 fermes françaises et 10 fermes espagnoles) apparaissent nettement, fondées sur la faune de nématodes. Aucune différence significative n'est observée entre fermes des deux lignées historiques, et le rôle des nématodes est à écarter.

Acariens du foin : 23 fermes sont étudiées et 8 sont infectées par la tremblante ; une lignée historique présente une fréquence plus élevée de cas de tremblante. Dans cette lignée, les Acariens candi-

dat potentiels pour la transmission sont : *Cheletomorpha lepidopterum*, *Tydeus spp*, *Tarsonemus sp.* Une étude rétrospective plus large en Islande (76 fermes) sur les Acariens du foin et la tremblante indique également la présence de vecteurs potentiels : *Ctenoglyphus plumifer*, *Tydeolinae sp.*, *Cryptostigmata sp.*, *Penthaleus major*. Les deux études montrent que certains acariens du foin sont des candidats sérieux pour la transmission.

Une analyse des pratiques d'élevage dans des fermes avec ou sans tremblante (n = 30, Pyrénées-Atlantiques) devrait conforter ou infirmer les hypothèses vectorielles. Les fermes présentant de la tremblante introduisent de nouveaux animaux (résultat de l'épidémie, favorable à la diversité des nématodes parasites), des aliments (foin : non significatif ; céréales : significatif ; paille : significatif). Les introductions d'animaux et d'aliments jouent un rôle complexe qui ne permet pas de valider simplement les hypothèses. Toutefois, il est raisonnable de proposer les scénarios suivants : i) les introductions d'animaux sont la cause (scénario génétique) et/ou la résultante de la maladie, ii) les introductions de foin ne semblent pas jouer un rôle, les acariens vecteurs du foin ne seraient que les témoins d'un entretien de la maladie sur place, alors que les introductions, de paille ou de céréales seraient un facteur favorisant (autres acariens ?).

Les ovins infestés par un parasite développent la tremblante un peu plus vite que les non parasités, mais aucune espèce n'a révélé la présence de PrPSc. Parmi les rongeurs sauvages, le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*) a des populations plus abondantes que le campagnol des champs (*Microtus arvalis*), mais ni lui ni la souris domestique piégée dans des fermes à forte endémie de tremblante n'ont présenté de PrPSc et ne constituent donc des réservoirs.

En conclusion, ni les nématodes (Gruner *et al* 2004) ni les rongeurs n'ont joué un rôle dans la transmission de la tremblante. Certains acariens du fourrage restent des candidats très probables.

témoins, menée par l'AFSSA, et une étude spatiale mise en œuvre à l'INRA. Cette dernière consiste à analyser le taux d'incidence de l'ESB par unité géographique en relation avec les caractéristiques techniques des usines de fabrication d'aliment du bétail de la zone étudiée. Les données démographiques des différentes espèces animales domestiques sont également prises en compte.

À ce jour, l'analyse descriptive des cas d'ESB (carte de probabilité d'incidence avec estimations bayésiennes et étude d'agrégats) a été réalisée (encadré 4), d'une part dans la région du Grand Ouest de la France sur la période août-décembre 2000 (Abrial *et al*

2003), et d'autre part sur la France entière sur la période juillet 2001-décembre 2002, afin de s'affranchir de la variabilité géographique de la qualité du dépistage. En effet, au cours de ces deux périodes, la surveillance clinique était complétée par une surveillance active avec les tests rapides à l'équarrissage et à l'abattoir (deuxième période uniquement pour les tests à l'abattoir). Les résultats montrent une hétérogénéité spatiale des cas d'ESB. Ils permettent donc d'envisager de rechercher les facteurs spatiaux explicatifs de cette hétérogénéité.

Ces travaux ne sont possibles que depuis la mise en place des tests de dépistage à l'abat-

Encadré 4. Hétérogénéité spatiale de l'ESB en France.

D. ABRIAL¹, N. JARRIGE², E. MORIGNAT², D. CALAVAS², C. DUCROT¹

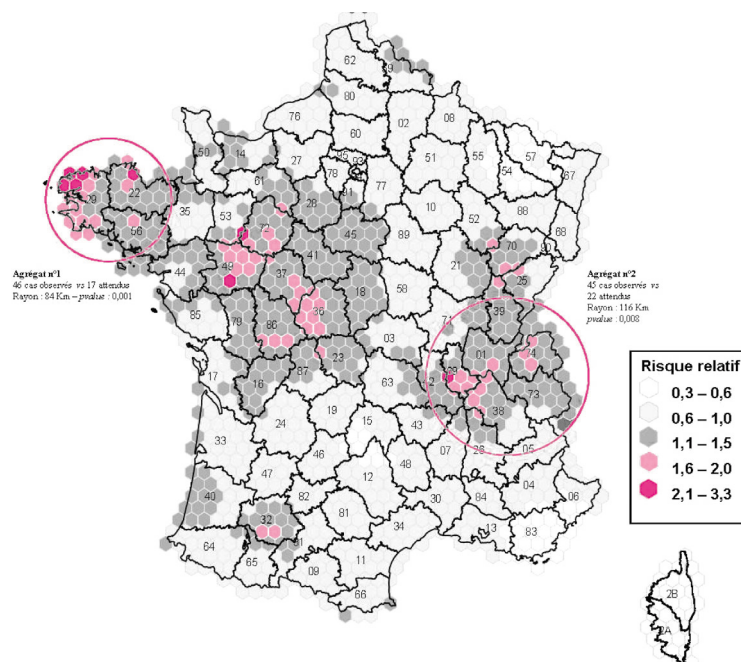
¹Unité d'Epidémiologie Animale, INRA Theix

²Unité Epidémiologie, AFSSA Lyon

Cette carte représente le risque relatif de contamination par l'ESB pour les bovins NAIF (Nés Après l'Interdiction des Farines animales, i.e. de 1991 à juin 1996), dépistés entre juillet 2001 et décembre 2002 (378 cas) ; la surveillance est géographiquement homogène dans cette période, associant surveillance clinique et tests à l'abattoir et à l'équarrissage. Les zones en rouge, rose et gris sombre présentent un risque ESB supérieur à la moyenne nationale. Statistiquement, il a été observé une hétérogénéité spatiale significative à l'échelle de la France ($p = 0,002$) et deux agrégats de cas (cercles), centrés sur la Bretagne ($p = 0,001$) et la région Rhône-Alpes ($p = 0,008$).

D'un point de vue méthode, le zonage utilisé est un quadrillage du territoire français avec 1392

hexagones de 22 km de côté. Le risque relatif (méthode des taux standardisés) est le rapport du nombre de cas d'ESB observés dans chaque hexagone sur le nombre de cas attendus s'ils étaient répartis au hasard en France. L'analyse tient compte des structures démographiques de la population bovine, de la différence de risque entre vaches laitières et allaitantes, repose sur une loi de Poisson car le nombre de cas par hexagone est un évènement rare, et intègre une composante de voisinage local considérant que deux hexagones mitoyens doivent avoir un risque d'ESB assez proche. L'ajustement a été fait par une méthode de Monte Carlo par Chaînes de Markov. Parallèlement, la méthode des cercles de Kulldorff a été mise en œuvre pour confirmer l'existence d'agrégats de cas.



toir et à l'équarrissage (Calavas *et al* 2001, Morignat *et al* 2002), qui ont permis de compléter le dispositif de surveillance de l'ESB depuis 2000. Auparavant, des travaux ont montré que la surveillance était incomplète et non homogène sur le territoire national (Cuenot *et al* 2003), ce qui pouvait biaiser les résultats des études épidémiologiques (Ducrot *et al* 2003). Les données actuelles nous permettent ainsi d'analyser la tendance actuelle de l'épizootie en France, à la baisse à partir de la cohorte de naissance 1994-1995 (Morignat *et al* 2004, Labonnardière *et al* 2004).

2.3 / Modélisation mathématique

L'apport de la modélisation dans l'étude de la dynamique des EST dans les populations animales (ferme, population générale) est multiple. Le premier modèle publié par l'équi-

pe d'Anderson (Anderson *et al* 1996) en Grande-Bretagne a donné des estimations de l'âge à la contamination, de la durée d'incubation et de l'ampleur passée de l'épidémie d'ESB. Un modèle de ce type a récemment été appliqué à la situation française (Supervie *et al* 2004) et montré qu'une forte proportion des cas d'ESB n'a pas été dépistée dans les années quatre-vingt et quatre-vingt-dix. Les modèles permettent par ailleurs de tester certaines hypothèses de transmission de la maladie, et vérifier si les données réelles sont compatibles avec ces hypothèses ; c'est cette approche qui est développée dans le modèle présenté ci-après sur la tremblante. Les modèles permettent aussi d'analyser théoriquement l'évolution de la maladie dans le cheptel et simuler son devenir à long terme sous certaines conditions ou hypothèses ; c'est ce qui est entrepris avec le modèle présenté sur l'ESB.

a / Tremblante

L'épidémiologie de la tremblante, et en particulier ses mécanismes de transmission, ne sont encore que partiellement connus. On distingue généralement deux modes de transmission : la transmission verticale, correspondant à une contamination maternelle in utero ou périnatale ; et la transmission horizontale, probablement par voie orale, l'agent pathogène de la tremblante étant tout d'abord détecté au niveau de l'intestin. Ainsi, la présence de cet agent dans le placenta suggère la possibilité d'une transmission horizontale accrue pendant la saison d'agnelage. Afin d'explorer cette hypothèse, un modèle mathématique permettant de reproduire la dynamique de transmission de la maladie au sein d'un troupeau constitue un bon outil. Le modèle utilisé dans cette étude (Stringer *et al* 1998) avait déjà permis d'analyser des épizooties de tremblante dans des troupeaux ovins écossais (Matthews *et al* 2001). Il a été appliqué au troupeau expérimental de Langlade (Station d'Amélioration Génétique des Animaux, INRA Toulouse), dans lequel une épizootie naturelle de tremblante a débuté en 1993 (Elsen *et al* 1999) et pour lequel des données précises et complètes sont disponibles. Les simulations issues du modèle (Touzeau *et al* 2004) montrent un bon degré d'adéquation avec les données observées dans le troupeau de Langlade, en particulier : le nombre total de cas de tremblante, leur répartition par âge et par génotype, ainsi que l'évolution de l'épizootie au cours du temps. En outre, les résultats obtenus tendent à confirmer l'hypothèse d'une contamination saisonnière accrue au moment des mises bas (encadré 5). Cette approche de modélisation pourrait aussi être employée pour tester d'autres hypothèses de transmission et évaluer l'impact de différentes mesures de contrôle. Un travail a aussi été réalisé pour modéliser la transmission de la tremblante entre troupeaux, au sein d'une région (Durand *et al* 2004, Sabatier *et al* 2004).

b / Encéphalopathie Spongiforme Bovine

L'objet du modèle développé est de simuler l'évolution de l'épidémie d'ESB en Grande-Bretagne pour une prédiction à long terme en fonction d'hypothèses de transmission différentes et de scénarii de contrôle de la transmission (encadré 6).

Dans l'état actuel de son développement, et dans le cas général où, outre la contamination de type vertical, l'on considère une contamination par l'alimentation et l'environnement, le modèle montre (Jacob et Magal 2004) que l'on maximise la chance d'aboutir à l'extinction de la maladie lorsque la vache atteinte et son veau sont abattus. Néanmoins, cette mesure ne garantit l'extinction que lorsque les sources de contamination autres que maternelles sont suffisamment faibles. Dans le cas particulier où il n'y a pas de contamination horizontale (la seule source possible de contamination est maternelle), l'extinction monotone a toujours lieu. Des simulations permettent d'estimer la vitesse de convergence vers l'endémicité ou l'extinction de l'épidémie selon que l'on abat ou non les veaux nés de mère atteintes, les mères étant toujours supposées être abattues dans l'année. La prochaine étape du travail est d'estimer les paramètres de contamination à partir des données réelles de terrain.

Conclusion

Comme pour toutes les recherches portant sur les EST, les contraintes des études épidémiologiques concernent l'absence de dépistage avant la mort de l'animal et le très long délai d'incubation de la maladie. Ceci oblige les chercheurs à des recueils de données sur de nombreuses années et restreint la mise en œuvre d'études rétrospectives (qui nécessitent de remonter plusieurs années en arrière) aux informations relevées de manière écrite et systématique dans les exploitations agricoles ou dans les structures d'appui technique. Par ailleurs, l'absence de traces détectables de l'infection au cours de la période d'incubation empêche de mesurer certains paramètres tels que la période d'infection par exemple ; la modélisation mathématique est précieuse car elle permet, dans une certaine mesure, d'estimer ces données inaccessibles. Dans ce contexte biologique difficile, les approches combinant expérimentation, études terrain et modélisation sont plus efficaces, ainsi que la collaboration pluridisciplinaire. Pour les mêmes raisons, les compétences et les moyens financiers nécessaires pour mettre en œuvre certains projets ne peuvent se concevoir qu'à l'échelle européenne.

Encadré 5. Modélisation de la transmission de la tremblante dans un troupeau ovin : mise en évidence d'un effet « saison ».

S. TOUZEAU, M.E. CHASE-TOPPING, L. MATTHEWS, D. LAJOUS, F. EYCHENNE, J.-M. ELSÉN, M.E.J. WOOLHOUSE

La présence de l'agent pathogène de la tremblante dans les placentas suggère la possibilité d'une transmission horizontale accrue pendant la saison d'agnelage. Le but de cette étude était de tester cette hypothèse par le biais d'un modèle mathématique permettant de reproduire la dynamique de transmission (Stringer *et al* 1998), qui a été appliqué au troupeau expérimental de Langlade (SAGA, INRA Toulouse), dans lequel une épizootie naturelle de tremblante a débuté en 1993.

Données

- Troupeau : brebis de renouvellement de race Romanov (ca. 600 brebis);
- Période d'étude : de janvier 1992, date probable d'introduction de la tremblante, à janvier 1996, pour conserver des pratiques d'élevage homogènes.
- Données : dates de naissance et mort, pedigree, diagnostic de tremblante, génotype PrP (10 identifiés pour quatre allèles : VRQ, ARQ, AHQ, ARR).

Modèle

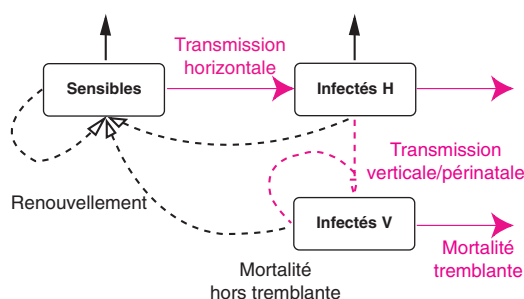
Le troupeau est structuré selon l'âge des animaux, leur génotype PrP, leur statut tremblante (sensible ou infecté), avec en plus pour les infectés, la voie de contamination (H : horizontale ou V : verticale) et leur infectiosité. Le modèle (Touzeau *et al* 2004) incorpore les processus démographiques et épidémiologiques représentés dans la figure 1.

L'infectiosité d'un individu contaminé est supposée croître de manière exponentielle pendant la période d'incubation (de moyenne estimée à 1,7 ans). Les taux de transmission tiennent compte de l'infectiosité de la mère pour la voie verticale et des brebis au contact pour la voie horizontale ; ils incluent une composante génétique, traduisant les sensibilités relatives des individus selon leur génotype PrP ($VRQ/VRQ = 0,8$; $ARQ/VRQ = 0,6$; $ARQ/ARQ = 0,4$). Deux scénarii limites ont été testés selon l'hypothèse faite pour la transmission horizontale : uniquement pendant la saison d'agnelage (40 jours en janvier-février) (H1) ; tout au long de l'année (H2). Les paramètres sont identiques pour les deux scénarii, sauf le taux de transmission horizontale ajusté pour que le nombre total de cas de tremblante corresponde aux données (247 cas).

Résultats

L'évolution des cas de tremblante au cours du temps (figure 2) correspond beaucoup mieux aux données lorsque l'on suppose une transmission horizontale saisonnière (H1), que lorsque celle-ci

Figure 1. Représentation du modèle de transmission de la tremblante dans un troupeau.



intervient toute l'année (H2). Plus généralement, les simulations issues de l'hypothèse H1 montrent un bon degré d'adéquation avec les données observées dans le troupeau de Langlade au niveau de l'incidence de la tremblante (figures 2, 3, 4).

Conclusion

Les résultats obtenus tendent ainsi à confirmer l'hypothèse d'une contamination horizontale accrue lors de la saison des mises bas, liée à l'infectiosité des placentas, ce qui n'exclut pas la possibilité d'une transmission plus faible au cours de l'année.

Cette approche de modélisation pourrait aussi être employée pour tester d'autres hypothèses de transmission et évaluer l'impact de différentes mesures de contrôle.

Figure 2. Comparaison des incidences de tremblante simulées pour les scénarii H1 et H2 avec les données de Langlade.

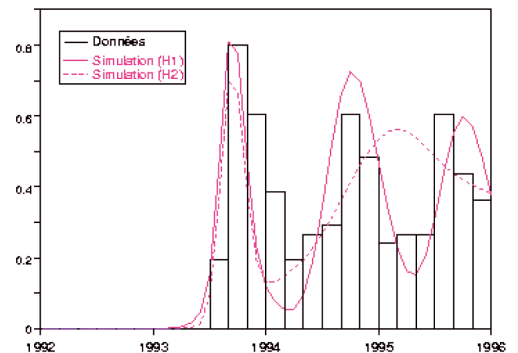


Figure 3. Distribution des cas par âge (ans).

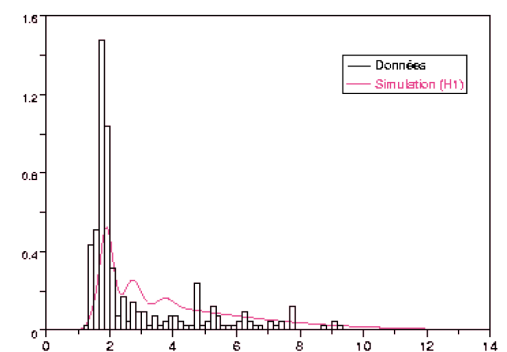
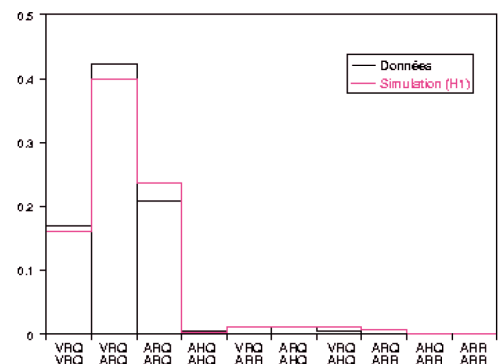


Figure 4. Distribution des cas par génotype.



Encadré 6. Modélisation de l'évolution de l'ESB en Grande-Bretagne : rôle respectif des transmissions et des abattages dans l'évolution à long terme de la maladie.

C. JACOB¹ ET P. MAGAL²

¹ Unité de Mathématiques et Informatique Appliquées, INRA, Jouy-en-Josas

² Département de Mathématiques, Faculté des Sciences et Techniques, Le Havre

Une des questions cruciales lors de l'occurrence d'une pathologie émergente comme l'ESB est celle de son devenir et de son contrôle. Va-t-elle s'éteindre ou évoluer vers l'endémicité ? Quelles mesures de contrôle préconiser ? La modélisation dynamique permet de répondre à ce type de questions, appliquée ici à l'évolution de l'ESB en Grande-Bretagne, en tenant compte d'un ensemble d'hypothèses (Jacob et Magal, soumis) reposant sur les connaissances acquises.

L'analyse mathématique du modèle montre qu'on maximise les chances d'aboutir un jour à l'extinction lorsqu'on abat l'animal atteint et son veau de l'année. Cette mesure ne garantit pas l'extinction et dépend de la sensibilité des animaux à l'infection. Des simulations permettent d'illustrer ces résultats : Pour chaque couple de graphiques (à gauche, pas d'abattage du dernier veau des vaches atteintes, à droite abattage de ces veaux), les courbes représentent l'évolution au cours du temps du pourcentage d'animaux contaminés (non infectieux (*i.e.* ne pouvant contaminer aucun autre animal) en tirets, infectieux en trait plein). La quantité $a(1)$ représente la probabilité de ne pas être contaminé dans l'an-

née qui vient, pour un animal sain au sein d'une population entièrement infectieuse.

Commentaires : Le pourcentage de contaminés non infectieux est en général beaucoup plus élevé que le pourcentage d'infectieux ; les animaux en incubation sont donc la partie immergée de l'iceberg. Selon le niveau de sensibilité à l'infection, le niveau d'atteinte de la population varie énormément ; par ailleurs, les mesures d'abattage des jeunes de mères atteintes ne garantissent l'extinction ou ne l'accélèrent un peu que lorsque la sensibilité à l'infection de type horizontal est suffisamment faible :
 - en cas de forte sensibilité à l'infection (figure 1), le niveau d'endémie est très élevé (de l'ordre de 0,75), l'abattage des jeunes de mères infectieuses augmentant même ce niveau.
 - en cas de sensibilité moins élevée (figure 2), le niveau endémique est mille fois inférieur et, si on abat les veaux de mères atteintes, la maladie s'éteint en une bonne centaine d'années.
 - pour une sensibilité très faible (figure 3), la maladie s'éteint de toutes façons, mais légèrement plus rapidement lorsqu'on abat les jeunes de mères infectieuses.

Figure 1. Evolution de la maladie pour une très forte sensibilité à l'infection ($a(1) = 0,0001$).

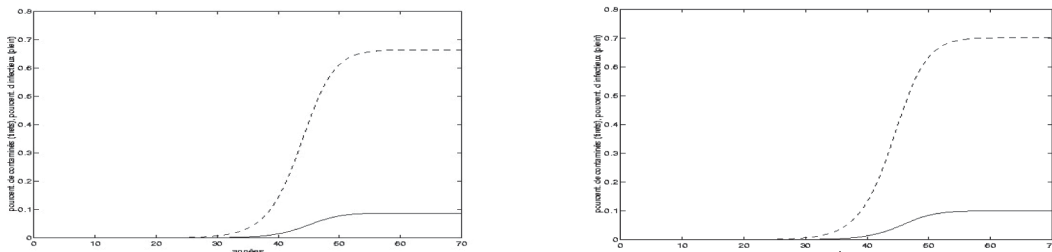


Figure 2. Evolution de la maladie pour une sensibilité à l'infection beaucoup moins forte ($a(1) = 0,0246$).

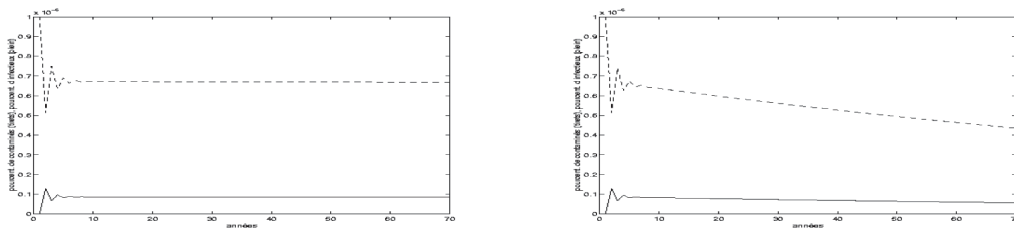
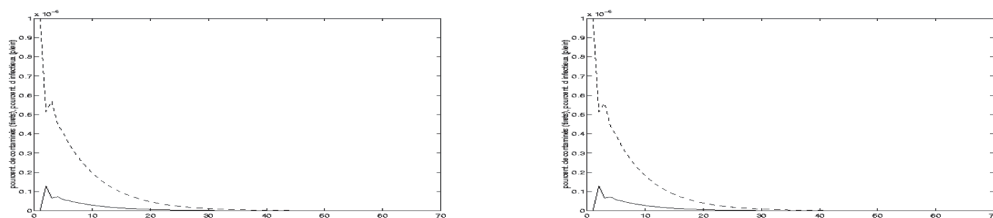


Figure 3. Evolution de la maladie pour une sensibilité à l'infection très faible ($a(1) = 0,1$).



Références

- Abrial D., Calavas D., Lauvergne N., Morignat E., Ducrot C., 2003. Descriptive spatial analysis of BSE in Western France. *Veterinary Research*, 34, 749-760.
- Anderson R.M., Donnelly C.A., Ferguson N.M., Woolhouse M.E.J., Watt C.J., Udy H.J., MaWhinney S., Dunstan S.P., Southwood T.R.E., Wilesmith J.W., Ryan J.B.M., Hoinville L.J., Hillerton J.E., Austin A.R., Wells G.A.H., 1996. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature*, 386, 779-788.
- Baron T., Madec J.-Y., 1996. L'agent infectieux des encéphalopathies spongiformes et sa transmissibilité. *Le Point Vétérinaire*, 28, 637-644.
- Brown P., Gajdusek D.C., 1991. Survival of scrapie virus after 3 year's interment. *The Lancet*, 337, 269-270.
- Cabaret J., 2003. Relating parasite communities to host environmental conditions using phylogenetic tools. *Parasite*, 10, 287-295.
- Calavas D., Ducrot C., Baron T., Morignat E., Vinard J.-L., Biacabe A. G., Madec J.-Y., Bencsik A., Debeer S., Eliazewicz M., 2001. Prevalence of BSE in western France by screening cattle at risk: preliminary results of a pilot study. *The Veterinary Record*, 149, 55-56.
- Cuenot M., Calavas D., Abrial D., Gasqui P., Cazeau G., Ducrot C., 2003. Temporal and spatial patterns of the clinical surveillance of BSE in France analysed from January 1991 to May 2002 through a vigilance index. *Veterinary Research*, 34, 261-272.
- Detwiler L.A., Baylis M., 2003. The epidemiology of scrapie. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties*, 22, 121-143.
- DGAL S.d.i.s.l.e.s.b., 2000. Enquête épidémiologique relative aux cas d'ESB survenus en France en 1999. <http://www.agriculture.gouv.fr/alim/sant/mala/esb.pdf>, Paris.
- Ducrot C., Calavas D., 2002. Epidémiologie de l'encéphalopathie spongiforme bovine et de la tremblante. In: Dodet B., Cathala F. (eds). *Les maladies humaines et animales à prions*. Elsevier, Paris, pp. 47-60.
- Ducrot C., Roy P., Morignat E., Baron T., Calavas D., 2003. How the surveillance system may bias the results of analytical epidemiological studies on BSE: prevalence among dairy versus beef suckler cattle breeds in France. *Veterinary Research*, 34, 185-192.
- Durand B., Dubois M.A., Sabatier P., Calavas D., Ducrot C., Van de Wielle A., 2004. Multiscale modelling of scrapie epidemiology - Geographical level: hierarchical transfer of the herd model to the regional disease spread. *Ecological Modelling*, 179, 515-531.
- Elsen J.-M., Amigues Y., Schelcher F., Ducrocq V., Andréoletti O., Eychenne F., Tien Khang J.V., Polvey J.-P., Laplanche J.-L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology*, 14, 431-445.
- Gruner L., Elsen J.M., Vu Tien Khang J., Eychenne F., Caritez J.C., Jacquet P., Andréoletti O., Sarradin P., Cortet J., Richer N., Leroux H., 2004. Nematode parasites and scrapie: experiments in sheep and mice. *Parasitological Research*, 93, 493-498.
- Hoinville L.J., 1996. A review of the epidemiology of scrapie in sheep. *Revue Scientifique et technique de l'Office Internationale des Epizooties*, 15, 827-852.
- Jacob C., Magal P., 2004. Asymptotic behavior of a discrete time SEIR model in a branching population with two age classes. Example of the BSE epidemics at the scale of a country. *Soumis*.
- La Bonnardière C., Calavas D., Abrial D., Morignat E., Ducrot C., 2004. Estimating the trend of the French BSE epidemic over six birth cohorts through the analysis of the abattoir screening in 2001 and 2002. *Veterinary Research*, 35, 299-308.
- Matthews L., Coen P.G., Foster J.D., Hunter N., Woolhouse M.E.J., 2001. Population dynamics of a scrapie outbreak. *Archives Virology*, 146, 1173-1186.
- Morignat E., Ducrot C., Roy P., Baron T., Vinard J.-L., Biacabe A. G., Madec J.-Y., Bencsik A., Debeer S., Eliazewicz M., Calavas D., 2002. Targeted surveillance to assess the prevalence of BSE in high-risk populations in western France and the associated risk factors. *The Veterinary Record*, 151, 73-77.
- Morignat E., Ducrot C., Roy P., Cohen C., Calavas D., 2004. Analysis of the prevalence of BSE at time of death to estimate the current trend of the epizootic in western France. *The Veterinary Record*, Sous presse.
- Sabatier P., Durand B., Dubois M.A., Ducrot C., Calavas D., Van de Wielle A., 2004. Multiscale modelling of scrapie epidemiology-I. Herd level : a discrete model of disease transmission in a sheep flock. *Ecological Modelling*, 180, 233-252.
- Schelcher F., Andréoletti O., Cabanié P., 1996. La tremblante des ovins. *Le Point Vétérinaire*, 28, 661-666.
- Sigurdarson S., 1991. Epidemiology of Scrapie in Iceland and experience with control measures. In: *Sub-acute Spongiform Encephalopathies*, Brussels, pp. 233-242.
- Stringer S.M., Hunter N., Woolhouse M.E.J., 1998. A mathematical model of the dynamics of scrapie in a sheep flock. *Mathematical Biosciences*, 153, 79-98.
- Supervie V., Costagliola D., 2004. The unrecognised French BSE epidemic. *Veterinary Research*, 35, 349-362.
- Touzeau S., Chase-Topping M.E., Matthews L., Lajous D., Eychenne F., Hunter N., Foster J.D., Simm G., Elsen J.-M., Woolhouse M.E.J., 2004. Modelling the spread of scrapie in a sheep flock: evidence for increased transmission during lambing seasons. *Soumis*.
- Wilesmith J.W., Wells G.A.H., Ryan J.B.M., Gavier-Widen D., Simmons M.M., 1997. A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *Veterinary Record*, 141, 239-243.

Abstract

Epidemiology of scrapie and Bovine Spongiform Encephalopathy in France

After providing an up-to-date overview on our knowledge concerning the infection sources and the transmission routes of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE), this paper presents a variety of studies carried out at INRA on the resistance of the agent, the infection sources, the transmission routes and the disease dynamic, both for scrapie and Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE). These studies involve various national and international collaborations, within French and European projects. Three dif-

ferent approaches were followed. Experimental studies were done on the persistence and dispersion of the prion protein in the soil, as well as on the effect of nematode worms as a possible way of transmission between animals. Epidemiological studies were carried out on the transmission routes of scrapie, concerning rodents, hay mites, worms, husbandry aspects, and the transmission of BSE, focused on feeding. Finally, different mathematical models based on field data simulate the long-term dynamics of scrapie and BSE depending on various scenarios, and allow testing some hypotheses on infection sources. The insets provide more details on these studies.