

Discussion Générale

Bilan de l'intégration des deux tests dans le dispositif de lutte contre la Tuberculose bovine

I. Bilan de l'intégration des tests IFN γ (Bovigam[®]) modifié et PCR IS6110 en temps réel (TaqVet[®] MTBC) dans le dispositif de lutte contre la Tb en Dordogne (2007-2010)

Le bilan de l'intégration des tests IFN γ (Bovigam[®]) modifié et PCR IS6110 en temps réel (TaqVet[®] MTBC) dans le dispositif de lutte contre la Tb en Dordogne entre 2007 et 2010 (mai) peut être décrit à partir du tableau II.3.1 présentant l'évolution de la Tb (suspensions, requalifications et foyers déclarés) en Dordogne.

Tableau II.3.1. Données chiffrées de l'évolution de Tb en Dordogne de 2005 à mai 2010*
(document DDCSPP 24 (ex DDSV24)).

	2005	2006	2007	2008	2009	2010*
Nombre de cheptels suspendus (%)	60	87	215 (5,1 %)	169 (7,5 %)	136 (5,5 %)	149 (5,6 %)
Nombre de cheptels infectés	13	29	24	13	13	15
Nombre de cheptels abattus	12	29	24	12	13	14
Nombre de bovins abattus	1322	2506	2225	1253	1580	1457
Nombre de bovins à lésions	56	140	50	42	48	—
Taux d'infection apparent	4,2 %	5,6 %	2,2 %	3,5 %	3,0 %	—
Nombre de cheptels dépistés :						
- en prophylaxie	4	12	18	11	10	10
- par liens épidémiologiques	3	8	1	0	0	4
- en abattoirs	6	8	5	2	3	1
- par réhabilitations	0	1	0	0	0	0
Montant de l'indemnisation (€)	1 727 069	2 517 717	3 714 223	2 108 114	3 100 000 (estimation)	—

I.1. Evaluation de la situation en Dordogne suite à l'utilisation du test IFN γ après une IDS non-négative (2007-2009)

I.1.1. Amélioration de la prophylaxie et de la détection des foyers

Bien que le nombre de foyers ait diminué à partir de 2008 (foyers : 29 en 2006, 24 en 2007 et 13 en 2008), il est resté élevé et stagne à ce jour (foyers : 13 en 2009 et 15 en 2010 (mai)). Comme le pic des foyers était antérieur à la mise en place du protocole basé sur le test IFN γ ,

ce test n'était donc pas à l'origine de l'augmentation du nombre de foyers détectés en Dordogne.

En effet, comme nous l'avons précisé précédemment, une adaptation locale du rythme des prophylaxies dans les communes des cheptels infectés (sans arrêté préfectoral, mais avec une adhésion des éleveurs) avait contribué à la découverte d'un grand nombre de foyers en 2006 (12/29 en prophylaxie). Cet accroissement était donc la résultante d'une meilleure efficacité de la prophylaxie et non d'une progression de l'infection. La preuve objective provient de la comparaison du nombre d'élevages suspects (cheptels suspendus) suite à une IDS non-négative, avant et à partir de 2006 (en 2005 sur 60 élevages suspendus, 4 détectés en prophylaxie et 6 en abattoir alors qu'en 2006 sur 87 élevages suspendus, 12 détectés en prophylaxie et 8 en abattoir, tableaux II.3.1 et II.3.2) (Cf. Figure II.3.2). Ceci montre aussi que le protocole basé sur le test IFN γ n'a donc pas été à l'origine de l'augmentation du taux de déclaration des cheptels à IDS non-négative.

Tableau II.3.2. Cheptels suspendus (nombre) détectés en prophylaxie ou abattoir puis requalifiés ou déclarés infectés de Tb entre 2005 et 2010* (*janvier à mai 2010*), en Dordogne

			2005	2006	2007	2008	2009	2010*	2007-2010*
Nombre de Cheptels suspendus lors de <u>prophylaxie</u> (IDS Non-négatives)	Requalifiés	après tests IFN γ négatifs (1)	NR	NR	122	110	76	104	412
		après IDC négatives (2)	?	?	18	30	48	13	109
		après abattages diagnostiques (pas lésion) (3)	?	?	5	18	23	10	56
		après résultats bactériologiques négatifs (4)	?	?	?	?	?	2	2
		total (1+2+3+4)	?	?	<i>145</i>	<i>158</i>	<i>147</i>	<i>129</i>	<i>579</i>
	Infectés (dépiétés en prophylaxie)	4	12	18	11	10	10	65	
Total	4	12	163	169	157	139	?		
Nombre de Cheptels suspendus à <u>la suite d'une suspicion à l'abattoir</u>	Requalifiés	?	?	0	1	2	0	?	
	Infectés (dépiétés à l'abattoir)	6	8	5	2	3	1	11	
	Total	6	8	5	3	5	1	11	

(Tableau réalisé à partir de données de la DDCSPP 24 et du GDS 24 (données directes et celles de Ripoché M., 2009) NR/ non réalisé ; ?/ donnée non disponible ; les données en italiques sont approximatives car elles ont été calculées sans tenir compte des données non disponibles.

Par ailleurs, les tableaux II.3.1 et II.3.2 montrent que depuis 2006, le dépistage des foyers est principalement réalisé en prophylaxie (4 en 2005, 12 en 2006, 18 en 2007, 11 en 2008, 10 en 2009, tableau II.3.2), comme en témoigne le maintien puis la baisse de détection des foyers dépistés à l'abattoir (6 en 2005, 8 en 2006, 5 en 2007, 2 en 2008, 3 en 2009, tableau II.3.2) ; par comparaison, entre 2002 et 2005 la détection des foyers était quasi-exclusivement en abattoir, tableau I.2.4). On peut observer sur la figure II.3.1, un pic correspondant aux cheptels détectés en prophylaxie en 2007 (18/24, tableau II.3.1).

Ceci est la conséquence du renforcement des mesures de prophylaxie (Arrêté préfectoral (AP) du 19 décembre 2006) appliqué depuis 2007 pour tout le département et sur tous les bovins de plus de 18 mois (campagne 2006-2007 : 95 % des cheptels bovins tuberculés alors que 50 % pour les années précédentes). De plus, la définition en 2008 d'une « zone à risque » où la prophylaxie est obligatoire chaque année (AP 21 novembre 2007) a renforcé le système de surveillance.

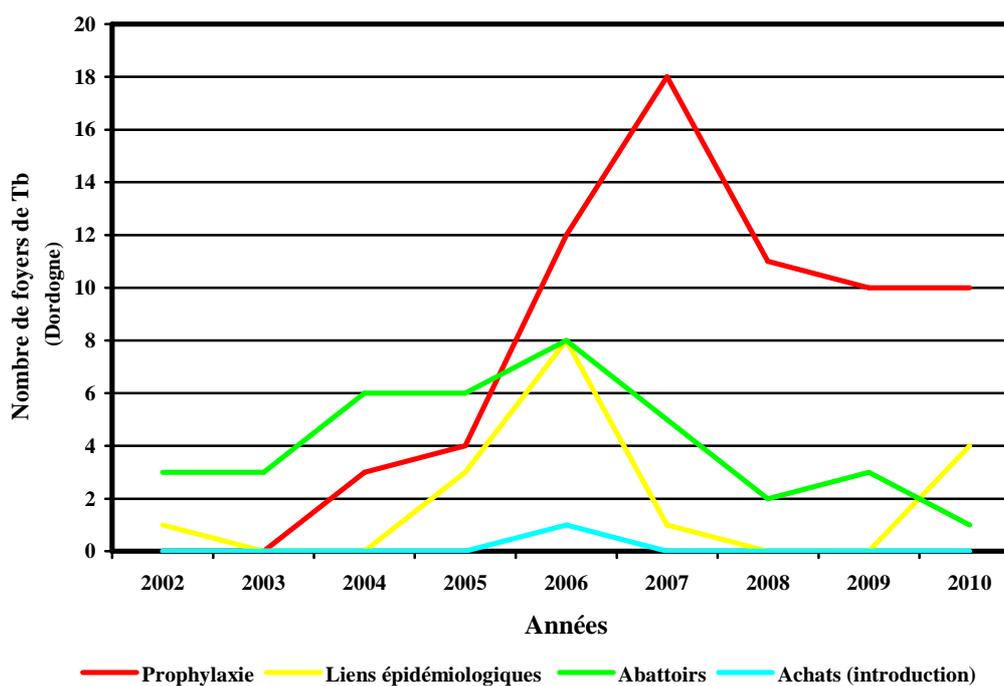


Figure II.3.1. Evolution des modes de détection (prophylaxie, liens épidémiologiques, abattoirs et achats (introduction)) des cheptels infectés de Dordogne entre janvier 2002 et mai 2010 (Document DDCSPP 24).

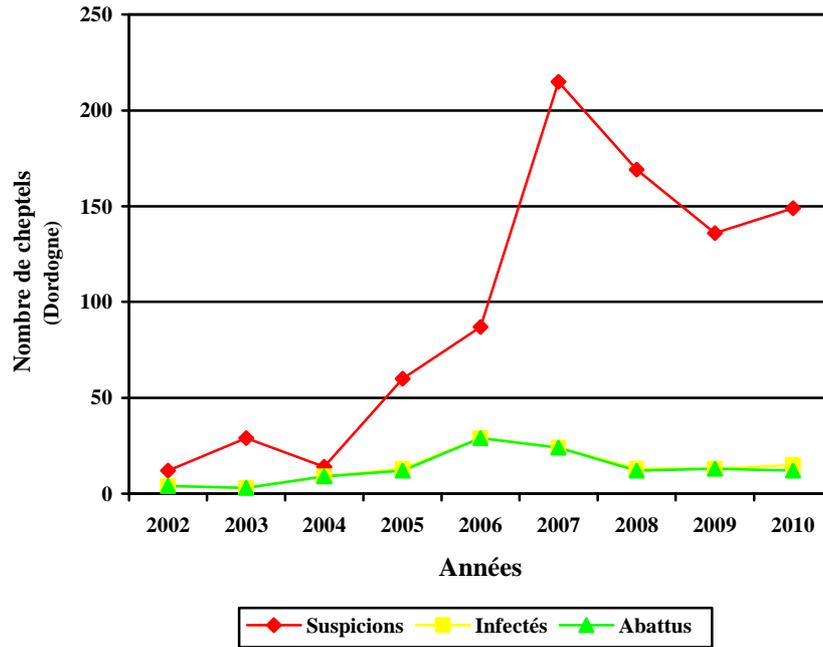


Figure II.3.2. Evolution du nombre de cheptels suspectés, infectés et abattus en Dordogne entre janvier 2002 et mai 2010 (Document DDCSPP 24).

I.1.2. Rôle clé du protocole IFN γ dans le maintien des déclarations des cheptels IDS non-négatifs

La mise en place du test IFN γ s'est avérée indispensable pour éviter une baisse de motivation des acteurs, engagés antérieurement dans un ensemble de résolutions visant à une meilleure détection des élevages infectés, grâce à un raccourcissement très important des délais. Ainsi, le nombre de cheptels déclarés à IDS non-négatives s'est maintenu depuis 2006 ce qui n'aurait peut-être pas été le cas sans le protocole IFN γ permettant une requalification rapide des cheptels négatifs au test.

En effet, entre 2007 et 2010, environ 71 % (412/ 579, tableau II.3.2) des cheptels requalifiés l'ont été grâce au test IFN γ , soit directement après une IDS non-négative, dans un délai de quelques jours suivant l'IDS (délai moyen en 2007 de 11 jours), contre 6 semaines minimum dans la procédure réglementaire basée sur l'IDC. Le protocole IFN γ a donc répondu aux attentes des éleveurs : réduire le temps de suspension des cheptels car les conséquences économiques (et psychologiques) subies par les éleveurs sont proportionnelles à ce délai, et sont d'autant plus importantes si le cheptel est laitier ou bien labellisé. Avec un délai moyen actuel de suspension de moins d'une semaine, les répercussions sont donc minimes pour

l'éleveur et par conséquent, la déclaration d'un bovin non-négatif en IDS n'est plus pénalisante pour un cheptel indemne.

I.1.3. Réduction du nombre d'abattages diagnostiques

En raison du renforcement des mesures de détection à partir de 2006, le nombre de cheptels suspendus a augmenté de façon importante. Subséquemment, entre 2005 et 2006, le nombre d'abattages diagnostiques (bovins) a également fortement augmenté (Tableau II.3.2). Avec la mise en place du protocole IFN γ en 2007 (campagne prophylactique 2006-2007) et le dépistage par IDS généralisé sur l'ensemble du département, le taux de déclaration des IDS non-négatives a continué à augmenter (Tableau II.3.2). Toutefois, de 2007 à 2009 comme 63 % (308 cheptels requalifiés après test IFN γ négatif / [(450 requalifiés + 39 infectés) = 489 cheptels suspendus par IDS], tableau II.3.2) de ces cheptels ont été retrouvés négatifs au test IFN γ et requalifiés directement, seuls les cheptels IFN γ positifs (et les susceptibles avec un résultat divergent) ont été soumis à l'IDC, soit environ 37 % (100 % – 63 %) des IDS au lieu de 100 %.

Le taux de cheptels infectés parmi les non-requalifiés (par le test IFN γ) soumis à l'IDC a donc augmenté en 2007 (données non présentées), ce qui permettait de rentabiliser la suite de la procédure mais entraînait une diminution des abattages diagnostiques (Tableau II.3.2). Ceci explique pourquoi le nombre d'abattages diagnostiques a chuté (84 bovins en 2006 *versus* 40 et 37 en 2007 et 2008, [données GDS 24 extraites de Ripoche M., 2009]) alors que le nombre de cheptels déclarés à IDS non-négatives a augmenté (125 en 2006 *vs* 172 en 2008, données GDS 24 extraites de Ripoche M., 2009).

I.2. Evaluation de l'utilisation du test PCR IS6110 en temps réel en Dordogne (2006-2009)

Depuis la fin d'année 2006 au milieu d'année 2009, la méthode PCR était systématiquement utilisée en Dordogne alors que son résultat n'était pas employé pour confirmer ou infirmer le diagnostic de Tb. Toutefois, il permettait le plus souvent de conforter le diagnostic de tuberculose, et ses conséquences (abattage total du cheptel), qui reposait à l'époque sur une IDC non-négative associée à l'observation de lésions tuberculeuses sur un même animal confirmées par un résultat positif en histologie, ce diagnostic étant fréquemment contesté par l'éleveur. De même, dans le cas de découverte d'abattoir, un résultat positif concordant avec

l'histologie permettait d'apporter une garantie supplémentaire dans la qualité du diagnostic et par conséquent, l'attente du résultat bactériologique était mieux supportée.

Certaines décisions (abattage diagnostique, abattage total) ou l'attente du résultat bactériologique étaient donc mieux acceptées grâce à l'association bénéfique de la PCR à l'histologie, dont cette méthode compense le manque de spécificité, tout en donnant un résultat aussi sensible que la bactériologie mais dans un délai largement plus rapide.

Dans le cas de résultats positifs en PCR mais négatifs en histologie alors, la PCR permettait d'orienter le diagnostic et d'inciter à la réalisation d'IDC sur le cheptel, en attendant la confirmation bactériologique.

II. Evolution 2007-2010 de la réglementation relative à la lutte contre Tb en France

- Intégration des tests IFN γ et PCR dans le dispositif règlementaire de lutte contre la Tb

L'arrêté du 15 septembre 2003 modifié* en vigueur en 2007, autorisait le recours au test de dosage d'IFN γ pour le diagnostic de la Tb (dans les troupeaux suspects ou infectés) mais aucun texte décrivant son cadre d'utilisation précis n'était diffusé. La méthode PCR n'était, quant à elle, pas mentionnée.

Bien que des modalités de mise en œuvre du dosage d'IFN γ aient été précisées par la **note de service du 30 juillet 2007**, pour les cheptels de races d'intérêt locales (en Camargue), infectés, suspects ou susceptibles d'être infectés et ce, dans le cadre d'abattage sélectif ou diagnostique, l'application du test IFN γ en Dordogne n'était encore qu'expérimentale mais avec l'accord des autorités locales et la participation financière de la DGAI.

Dans **un rapport d'appui scientifique et technique de l'Afssa**, transmis par la DGAI le **10 juillet 2008**, relatif à l'évaluation du « protocole IFN γ » appliqué en Dordogne pour la gestion des suspicions lors des prophylaxies, des recommandations de mise en œuvre de ce test avaient été formulées. En effet, il y était notamment précisé d'appliquer le test IFN γ modifié (basé systématiquement sur les PPD et le mélange d'antigènes spécifiques (les protéines recombinantes, ESAT6 & CFP10)), sur des animaux réagissants à l'IDS (non-négatifs) mais aussi, d'effectuer la prise de sang pour le test IFN γ lors de la lecture de l'IDS (soit à 3 jours au lieu de 10) et d'inclure un témoin d'immunocompétence (PWM).

Tous ces conseils avaient été néanmoins pris en compte pour la campagne de prophylaxie 2007-2008 (décrit précédemment dans ce manuscrit). Par ailleurs, cet avis soulignait qu'il était tout à fait justifié de réaliser des études de spécificité et de sensibilité de ce test.

Puis, **le 14 janvier 2009**, l'Afssa a rendu son **avis sur le projet d'arrêté** modifiant l'arrêté du 15 septembre 2003 (Avis Afssa 2008-SA-0263). Les plus importantes modifications présentées étaient des propositions d'adaptation du texte en fonction de la situation épidémiologique actuelle de la maladie et des nouveaux outils disponibles, les tests IFN γ et PCR. Ainsi, ces nouveaux tests ont été ajoutés aux tests classiques de dépistage et de diagnostic de la tuberculose bovine.

Suite à cet avis, **l'arrêté ministériel modifiant l'arrêté du 15 septembre 2003** est finalement paru **le 19 août 2009** et a été suivi **le 12 octobre 2009** d'une **note de service** faisant état des principales dispositions apportées par l'arrêté du 19 août 2009.

L'utilisation du test IFN γ modifié est donc désormais prévue lors des prophylaxies, des contrôles d'introduction et également en cas de dérogation à l'abattage total. Cependant, « le recours au test IFN γ est seulement réservé aux départements de la Dordogne et de la Côte d'Or et, en Camargue (pour certains troupeaux de races particulières) ».

En outre, la méthode PCR a été ajoutée comme méthode de diagnostic autorisée.

Ainsi, un bovin est considéré comme suspect d'être infecté « après constatation d'un résultat positif à une analyse par la méthode PCR réalisée par un laboratoire agréé » ou, « après constatation de réactions tuberculiques non-négatives et/ou de résultats non-négatifs au test de dosage de l'interféron gamma lors d'une opération de prophylaxie ou lors d'un autre contrôle quelle que soit la circonstance qui l'ait motivé » (Tableau II.3.3).

En outre, un bovin chez lequel sont observés « une PCR positive ainsi que des lésions histologiques évocatrices de Tb ou une IDT positive, est considéré comme infecté » (Tableau II.3.3).

Toutefois, les résultats positifs en PCR « ne sont reconnus comme tels qu'après confirmation par le LNR (Afssa-Lerpaz) ».

Tableau II.3.3. Catégories d'animaux redéfinies par les nouveaux textes règlementaires de la lutte contre la Tb chez les bovinés
(AM du 19/08/2009 modifiant l'AM du 15/09/2003 modifié* (article 12) et NS du 12/10/09).

Statut de l'animal	Caractéristiques
« indemne de Tb »	- Appartient à un troupeau officiellement indemne de Tb.
« contaminé de Tb »	- Appartient à un troupeau déclaré infecté de Tb mais n'est pas « infecté de Tb ».
« suspect d'être infecté de Tb »	- Présente des lésions évocatrices de Tb à l'abattoir ou l'autopsie ou - Présente des lésions histologiques évocatrices de Tb dans un laboratoire agréé ou <i>- Présente un résultat positif à une analyse par méthode PCR réalisée par un laboratoire agréé ou</i> <i>- Présente une IDT non-négative et/ou un résultat non-négatif au test IFNγ lors d'une opération de prophylaxie ou d'un autre contrôle.</i>
« infecté de Tb »	- Présente des signes cliniques de Tb et une IDT positive ou - A permis l'isolement et l'identification de <i>M. tuberculosis</i> ou <i>M. bovis</i> dans un laboratoire agréé ou - Présente une IDC positive et des lésions histologiques évocatrices de Tb ou <i>- Présente des lésions histologiques évocatrices de Tb associées à un résultat positif à une analyse par méthode PCR ou</i> <i>- Présente une IDS ou d'une IDC positive associée à une analyse PCR positive.</i>

N.B. : Les nouveaux critères sont décrits en italique

➤ Drogation à l'abattage total : conditions très strictes et utilisation des nouveaux outils

En 2007, l'assainissement d'un troupeau infecté de tuberculose régi par l'arrêté du 15 septembre 2003 modifié prévoyait un **abattage total** systématique de tout foyer confirmé de Tb (quelle que soit l'étendue de l'infection au sein du troupeau considéré). Cette politique d'abattage total restait la mieux adaptée, dans le contexte épidémiologique de très faible incidence, pour préserver le statut officiellement indemne du pays (Avis Afssa 2008-SA-0084). En effet, cette pratique se justifiait afin de favoriser l'éradication la plus rapide possible de l'infection sur le territoire français et éviter sa réémergence à partir de quelques foyers résiduels.

Un groupe de travail (formé des DDSV, laboratoires vétérinaires départementaux et GDS concernés et, de la DGAI, l'ENVA, la FNGDS, la SNGTV et l'Afssa) a été constitué en novembre 2007 pour conduire une réflexion sur l'adaptation des mesures de dépistage et de

gestion des foyers de Tb. L'objectif fixé était de « proposer des mesures de lutte appropriées et harmonisées, permettant d'aboutir à l'éradication de la maladie ».

Ainsi, dans un rapport de **2008** (à la DGAI), ce groupe de travail faisait état **des difficultés rencontrées sur le terrain**, en matière **d'application du dispositif d'abattage total**, à cause de la rémanence de la tuberculose dans les zones non encore assainies malgré les efforts entrepris. Il soulignait un certain découragement des acteurs locaux, relatif notamment au fait que, depuis ces dernières années, de nombreux foyers identifiés en Dordogne comme en Côte-d'Or ne comprenaient qu'un nombre très limité d'animaux tuberculeux (75 % des foyers avec un ou deux animaux infectés) alors que les abattages totaux avaient été suivis d'inspections systématiques à l'abattoir et de nombreuses investigations de laboratoire (tests IFN γ et PCR et tests conventionnels).

Après évaluation des coûts/bénéfices de l'abattage total dans de telles situations, ce groupe a élaboré un **protocole d'abattage partiel** qui a été ensuite **soumis pour avis au LNR (Tb)** de l'Afssa en septembre 2008.

En parallèle, **le 4 septembre 2008**, paraissait un **arrêté ministériel** relatif à la « possibilité de déroger à l'obligation d'assainissement par abattage total du troupeau infecté de Tb (en dehors des situations concernant les races d'intérêt locales), accordée dans les départements de la Dordogne et de la Côte d'Or, dans le cadre de la mise en œuvre d'un protocole expérimental et selon les modalités fixées par instruction du ministre chargé de l'agriculture ».

Cependant, cet arrêté a rapidement été suivi le **1^{er} octobre 2008** d'une **note de service**, précisant que l'abattage partiel à titre expérimental en cas de Tb était réservé à « certains cheptels éligibles des départements 21 et 24 » et que l'arrêté ne pouvait « pas être mis en œuvre immédiatement » étant donné que ses modalités et son application éventuelles n'étaient pas encore précisées.

En **novembre 2008**, l'Afssa a rendu son **avis sur « les conditions de suivi des cheptels abattus partiellement dans le cadre de la tuberculose en vue de leur requalification compte tenu des qualités intrinsèques des tests »** (tests IFN γ et PCR et tests conventionnels) (Avis Afssa 2008-SA-0167). Ainsi, le CES SA (comité d'experts scientifique en santé animale) « réaffirmait l'intérêt du recours à l'abattage total précoce des cheptels reconnus infectés dès lors qu'un risque de diffusion de la maladie ne peut être écarté ». Néanmoins, il « admettait l'opportunité d'envisager la possibilité d'assainir certains cheptels

reconnus infectés de tuberculose bovine en procédant à un abattage partiel des animaux, sachant que la prise en compte des tests IFN γ et PCR, grâce à leurs qualités spécifiques respectives, était de nature à améliorer le suivi des cheptels durant la phase d'assainissement ». Toutefois, il insistait sur la nécessité de prendre certaines « dispositions jugées de nature à limiter le risque de diffusion de la tuberculose bovine (tout en évitant d'éliminer la totalité des animaux) » ainsi que « la nécessité de prévoir un véritable retour d'expérience correspondant à un suivi scientifique précis de la mise en place du protocole, des résultats et notamment une évaluation de l'apport de l'emploi de l'IFN γ dans le protocole d'assainissement afin que des enseignements puissent être tirés et des ajustements effectués, le cas échéant ».

Suite à cet avis, une **lettre à diffusion limitée du 19 février 2009** relative à la « dérogation à l'abattage total à titre expérimental de certains troupeaux de bovins infectés de tuberculose dans les départements 21 et 24 », a permis d'informer les acteurs concernés par cette dérogation, des critères d'éligibilité et du protocole applicable.

Toutefois, ce document a été annulé et remplacé le **06 mai 2010 par une nouvelle lettre à diffusion limitée**, précisant les **modalités d'application de la dérogation à l'abattage total à titre expérimental** (décrits ci-après) : critères d'éligibilité, protocole applicable et modalité du retour d'expérience à communiquer à la DGAl avant le 31 janvier de chaque année pour ce qui concerne l'année n-1.

■ *Critères d'éligibilité :*

Cette dérogation à titre exceptionnel, est réservée aux exploitations de Dordogne et Côte d'Or infectées de Tb mais présentant un risque faible de diffusion de l'infection, évalué par étude de l'historique de l'élevage et d'une enquête épidémiologique objective (maîtrise du risque de diffusion dans la zone (gestion adaptée de l'occupation des pâtures, animal index porteur de lésions ganglionnaires stabilisées, % cumulé de bovins avec IDS + ou test IFN γ + ou PCR + (ou culture +), inférieur à 5 %). Après évaluation de l'éligibilité à la dérogation, la décision de la dérogation est prise par le Préfet après accord et engagement de l'éleveur.

■ *Modalités d'application :*

« Le protocole de dérogation comprend une phase d'assainissement suivie d'une phase de requalification avec un minimum de 4 contrôles des bovins de l'exploitation infectée ».

- *Phase 1 : Assainissement*

L'assainissement est réalisé à partir de deux contrôles consécutifs par IDS et test IFN γ utilisés systématiquement en série (espacés de 2 mois d'intervalle minimum) sur tous les bovins de plus de six semaines du cheptel concerné.

La proportion de tous les animaux avec « une IDS + ou un test IFN γ + » doit être inférieure ou égale à 5 % sinon ce protocole est obligatoirement interrompu au profit d'un abattage total. De plus, un abattage diagnostique est réalisé sur tous les animaux réagissants (positifs et douteux) ainsi que les animaux à risque identifiés par l'enquête épidémiologique initiale.

Par ailleurs, la culture, la PCR et éventuellement l'histologie (si lésion) sont réalisées sur les tous abattages diagnostiques. Cependant, si un animal présente des lésions ganglionnaires non stabilisées à l'abattoir (lésions ouvertes, signe d'une infection évolutive et donc risque accru de diffusion), alors l'assainissement par abattage partiel est stoppé au profit d'un abattage total. Il en est de même si le pourcentage cumulé de bovins avec « une IDS + et/ou un test IFN γ + et/ou des lésions évocatrices de Tb à l'abattoir confirmées par histologie, test PCR ou culture et/ou un test PCR + sans lésion associée et/ou une culture + sans test PCR +, ni lésion associée » dépasse 5 % de l'effectif du cheptel, après un ou plusieurs contrôles d'assainissement.

La phase d'assainissement par abattage partiel doit donc être obtenue en moins de 12 mois. Elle est réalisée à condition d'obtenir des résultats négatifs aux deux contrôles sur l'ensemble du cheptel.

- *Phase 2 : Requalification*

Avant de procéder aux contrôles de requalification par IDT, le nettoyage et la désinfection de l'exploitation sont mis en œuvre.

Ensuite, le 1^{er} contrôle par IDT (et test IFN γ éventuellement) est réalisé 2 mois au moins après le dernier contrôle d'assainissement favorable. Si au moins un animal présente un résultat défavorable en IDT alors « le protocole est repris à zéro (retour à un 1^{er} contrôle d'assainissement) ».

« La requalification est obtenue après 2 contrôles par IDT favorables (négatifs) sur l'ensemble des bovins de plus de 6 semaines, réalisés à 2-4 mois d'intervalle ». Toutefois, elle « doit être obtenue en moins de 2 ans » à compter de la mise en place du protocole. Au-delà de ces périodes, il est considéré que le protocole de dérogation a échoué », (il s'en suit un assainissement par abattage total du cheptel).

Il faut noter qu'afin d'écarter un risque de résurgence (malgré la rigueur avec laquelle les opérations de nettoyage et désinfection doivent être conduites), les experts scientifiques du CES SA recommandaient (dans des avis de 2009 (Afssa 2008-SA-0263 et 2009-SA-0109) portant sur le projet d'AM modifiant l'AM du 15/09/03) « un vide sanitaire après abattage total compris entre 15 jours et deux mois avant de réintroduire les animaux de remplacement » et un délai d'attente « de 30 jours minimum à 2 mois avant de réintroduire ces animaux sur des pâtures considérées contaminées » (maîtrise du risque de voisinage). Par contre, dans le cas d'abattage partiel, les experts « ont admis qu'une souplesse concernant ce vide sanitaire était acceptable, car n'augmentant pas de manière significative le risque de résurgence de la maladie ».

Cette souplesse est applicable dans le cas des élevages allaitants où il est possible de vider un local pour en assurer une désinfection efficace (ce qui suppose la succession des étapes de nettoyage, séchage, désinfection et à nouveau séchage), ce qui n'est pas le cas pour un élevage laitier, qui est soumis au rythme biquotidien de la traite, incompatible avec une réalisation satisfaisante de la désinfection.

➤ Revalorisation des mesures financières

Jusqu'en 2009, le montant de l'indemnité versée par l'Etat concernant les animaux abattus dans le cadre des abattages diagnostiques (ou des abattages partiels), étaient seulement de 229 euros en supplément de la valeur bouchère des animaux abattus.

La revalorisation de ces indemnités par un **arrêté ministériel en date du 17 juin 2009** permet désormais une indemnisation correcte, à la valeur moyenne de la catégorie (900 euros par vache éliminée, 500 euros pour un broutard), en supplément de la valeur bouchère, permettant ainsi de se rapprocher de la valeur réelle des animaux abattus. Par ailleurs, lorsque « l'infection est découverte à l'abattoir, la perte subie par l'animal, résultant de la différence entre sa valeur estimée et sa valeur de boucherie, est indemnisée dans la proportion de 75 % avec un plafond de 229 euros ».

Par ailleurs, l'adaptation de la réglementation nationale au contexte local, c'est à dire la reconnaissance réglementaire des tests IFN γ et PCR (AM 19 août 2009) permet désormais un meilleur soutien financier du programme appliqué, notamment par la participation financière de l'Etat à ces opérations de prophylaxie.

III. La situation épidémiologique en France 2007-2009

La situation de la Tb en France reste favorable avec un taux d'incidence de cheptels infectés de 0,035 % en 2009 (Tableau II.3.4), en légère augmentation par rapport aux années précédentes, sans toutefois remettre en question le maintien du statut officiellement indemne du pays par la Commission européenne. Cette stagnation est le reflet de la recrudescence de foyers dans certains départements comme la Dordogne et la Côte d'Or, qui ont fait l'objet de mesures de surveillance renforcée ayant conduit à la mise en évidence d'un nombre non négligeable de nouveaux foyers (77 en 2009 - Tableau II.3.4), certes en nombre relativement constant depuis plusieurs années, mais qui conduit à un taux en augmentation du fait de la diminution constante du nombre total d'élevages.

Tableau II.3.4. Evolution du nombre de foyers, des taux d'incidence et de prévalence de la Tb en France de 2006 à 2009
(NS 25 février 2009 et données DDCSPP 24 et DGAI).

	Année			
	2006	2007	2008	2009
Nombre de nouveaux foyers de Tb	83	76	83	77
Taux d'incidence	0,032 %	0,031 %	0,037 %	0,035 %
Taux de prévalence	0,040 %	0,042 %	0,048 %	ND

ND : non déterminé.

Pour le seul premier semestre 2010, la Côte d'Or a mis en évidence 45 nouveaux foyers de tuberculose et 5 autres (données DDCSPP 21), considérés pour l'instant comme suspects, vont très vraisemblablement être confirmés. Cette augmentation résulte, là encore, du renforcement des mesures de détection, utilisant justement la combinaison IDS (ou IDC selon les cas) et test IFN γ associée à la PCR pour les abattages diagnostiques.

Pour l'instant, ces mesures renforcées n'ont été utilisées que dans ces départements. Dans quelques autres départements, le simple constat d'une persistance, depuis le début des années 2000, de quelques foyers découverts uniquement par l'abattoir, à l'image de ce qu'ont connu ces deux départements, la Dordogne et la Côte d'Or (que l'on peut considérer comme pilotes, du fait de la mise en place de ces procédures de détection renforcée), laissent à craindre une probabilité élevée de répétition de ce type d'observation dans ces autres départements,

conduisant à y mettre en évidence un certain nombre de foyers, ce qui pourrait, à terme, remettre en question le statut indemne de la France.

Ces résultats montrent qu'il faut rester vigilant, maintenir les efforts dans les départements les plus infectés (Dordogne et Côte d'Or) en utilisant désormais le test IFN γ et la méthode PCR comme le mentionne la nouvelle réglementation, surveiller les élevages à risque et faire le point des départements à risque, reconnus comme tels, du fait, soit d'échanges commerciaux avec ces deux départements, soit de la persistance de l'apparition de quelques foyers découverts chaque année par l'abattoir uniquement. Une entente interdépartementale et interrégionale réunissant la Dordogne et les départements limitrophes a été créée en mai 2010 dans cet esprit.

IV. Test IFN γ modifié : Résultats de nos études et évolutions des modalités d'interprétation

IV.1. Modalités d'interprétation des résultats individuels des PPD et des R

Depuis le milieu de campagne de prophylaxie 2008-2009, le mode de calcul normalisé prenant en compte les variations d'absorbances liées aux conditions de l'analyse (comme le recommande la norme NF-U 47 019) est utilisé en Dordogne ; la formule "normalisée" pour calculer les résultats des PPD est $[(DO_B - DO_A) / (DO_{TP} - DO_{TN})]$ et celle pour calculer les résultats des R est $[(DO_R - DO_N) / (DO_{TP} - DO_{TN})]$.

Par contre, un seul seuil décisionnel est appliqué quelle que soit l'utilisation du test IFN γ , c'est-à-dire le seuil haut de 0,04 qui correspond au seuil de 0,10 recommandé par Bovigam[®] pour une utilisation du mode de calcul préconisé dans le kit («calcul initial »).

Les valeurs de sensibilité des PPD et R correspondant à ce critère ont été estimées à 83 % [72-92] et 80 % [68-89] respectivement.

Les valeurs de spécificité des PPD et R correspondant à ce critère ont été estimées, pour une utilisation du test seul, à 99,4 % [98,2-99,9] pour les deux et, pour une utilisation du test sur des animaux avec une IDS non-négative, à 73,3 % [69,4-77,0] et 93,1 % [90,6-95,0] respectivement.

Cependant, comme suggéré dans nos conclusions du chapitre I, relatives à la détermination des seuils dans un contexte de faible prévalence et selon différentes utilisations du test

IFN γ (en parallèle ou en série avec l'IDS), il serait souhaitable d'utiliser différentes valeurs-seuils pour les PPD et les R selon les conditions d'application du test.

Ainsi, les valeurs-seuils de 0,02 et 0,01 pour les PPD et les R respectivement pourraient être employées, en milieu sans réaction non-spécifique, dans le cas d'une application du test dans la population générale (en parallèle avec l'IDS), c'est-à-dire dans le cas de dépistage où l'on souhaite maximiser la sensibilité du contrôle (Se_r PPD de 93 % [84-98] et Se_r R de 97 % [89-100]) tout en disposant d'une spécificité très bonne (Sp PPD de 98,0 % [96,3-99,0] et Sp R de 95,9 % [93,8-97,5]) ; tels est le cas pour le protocole d'assainissement par abattage partiel, pour certains contrôles à l'introduction et dans les enquêtes épidémiologiques.

Les valeurs-seuils de 0,05 et 0,03 pour les PPD et les R respectivement pourraient être employées, en milieu où des réactions non-spécifiques sont possibles, dans le cas d'une application du test dans une population d'IDS non-négative c'est-à-dire dans le cas de diagnostic où l'on souhaite optimiser la spécificité (Sp_r PPD de 75,5 % [71,7-79,0] et Sp_r R de 90,7 % [87,9-93,0]) après un dépistage très sensible et peu spécifique tout en disposant d'une sensibilité satisfaisante (Se_r PPD de 83 % [72-92] et Se_r R de 87 % [75-94]); tel est le cas du protocole de gestion des suspicions lors de prophylaxie.

IV.2. Modalités d'interprétation du résultat final du test IFN γ

Durant la période 2007 à 2009, les résultats divergents étaient analysés différemment selon le contexte épidémiologique rencontré (favorable ou défavorable). En effet, dans le cas de cheptel n'ayant aucun risque connu (situation favorable), le cheptel était requalifié et les animaux avec un résultat divergent étaient recontrôlés 8 semaines après. A l'inverse, dans le cas de cheptel susceptible (situation défavorable), les animaux avec un résultat divergent étaient traités comme ceux avec un résultat positif.

Comme nous l'avons conclu dans le chapitre I, la méthode d'interprétation des résultats finaux (méthodes PPD \cap R ou PPDUR) était donc sélectionnée selon le contexte épidémiologique. Or comme la valeur du seuil décisionnel appliquée pour les PPD et les R était de 0,04, quelles que soient les conditions d'application du test, alors la valeur de sensibilité du test était estimée à 90 % [82-98] dans un contexte épidémiologique défavorable (en suivant la méthode PPDUR) et à 73 % [60-84] dans un contexte épidémiologique favorable (en suivant la méthode PPD \cap R).

Par contre, les valeurs de spécificité du test étaient différentes selon les conditions d'utilisation du test. Pour des applications en parallèle avec l'IDS et après une IDS non-négative, les valeurs de spécificité du test étaient estimées respectivement à 98,8 % [97,4-99,6] et 70,9 % [66,9-74,7] dans un contexte épidémiologique défavorable (en suivant la méthode PPDUR) et à 100 % [99,2-100] et 95,4 % [93,3-97,0] dans un contexte épidémiologique favorable (en suivant la méthode $PPD \cap R$).

Concernant les nouvelles valeurs-seuils déterminées (0,02 pour les PPD et 0,01 pour les R) pour une utilisation du test en parallèle à l'IDS (cas de contrôle à l'introduction ou de dérogation à l'abattage total), en milieu sans réaction non-spécifique, les valeurs de sensibilité et de spécificité (Sp) du test ont été estimées respectivement à 100 % [95-100] et 93,9 % [91,4-95,8] dans un contexte défavorable et, à 90 % [82-98] et 100 % [99,2-100] dans un contexte favorable (Tableau II.1.17).

Concernant les nouvelles valeurs-seuils déterminées (0,05 pour les PPD et 0,03 pour les R) pour une utilisation du test dans une population avec IDS non-négative (protocole prophylaxie), en milieu où des réactions non-spécifiques sont possibles, les valeurs de sensibilité et de spécificité opérationnelle* du test (Sp_r) ont été estimées respectivement à 93 % [84-98] et 71,8 % [67,9-75,6] dans un contexte défavorable et, à 77 % [64-87] et 94,3 % [92,0-96,1] dans un contexte favorable (Tableau II.1.17).

Néanmoins, les critères d'analyse (seuil) et les valeurs de sensibilité et spécificité obtenus sont caractéristiques du département étudié, la Dordogne. Il n'est donc pas envisageable pour les autres régions utilisatrices d'employer directement ces critères, à l'exception d'un statut infectieux et de conditions d'application du test identiques à la région étudiée (c'est-à-dire avec une faible prévalence de Tb, des réactions non-spécifiques rares et une application du test pour un dépistage dans la population générale en parallèle à l'IDS ou pour une confirmation de résultats non-négatifs en IDS). Les autres régions doivent donc réaliser une étude préalable afin d'adapter leurs seuils à leurs propres conditions.

Cependant, ces résultats de spécificité opérationnelle (Sp_r) du test $IFN\gamma$ seraient en réalité meilleurs. En effet, étant donné que le test $IFN\gamma$ modifié est un test précoce, certains vrais infectés avec un résultat $IFN\gamma$ positif et sans lésion sont au final classés à tort « faux positifs ». Il en est de même pour d'autres vrais infectés avec un résultat $IFN\gamma$ positif qui n'ont pas eu d'abattage diagnostique car ils ont été requalifiés suite à une IDC négative.

Par conséquent, les faux positifs réels seraient assez rares, tout au moins en Dordogne (ce n'est pas le cas en Côte d'Or, dont les problèmes liés aux mycobactéries atypiques sont récurrents et interfèrent avec le dépistage de la Tb).

Dans notre étude de spécificité opérationnelle (Sp_r) du test IFN γ modifié, 25/547 animaux (soit 21/172 cheptels) ont eu un résultat positif au test IFN γ modifié (mode de calcul normalisé et seuil de 0,04). Toutefois, 16 parmi les 24 animaux testés en IDC ont été requalifiés suite à un résultat négatif et donc n'ont pas été abattus en vue d'un diagnostic. De plus, les cheptels respectifs de 8 de ces 16 animaux ont été suspendus puis requalifiés les années suivantes.

Concernant les 9 animaux abattus (7 avec une IDC non-négative), un seul a présenté des lésions et a été trouvé positif seulement en PCR et donc le cheptel a été requalifié (vraisemblablement à tort).

Cependant, le cheptel d'un animal sans lésion, parmi les 25 animaux positifs au test IFN γ , a été déclaré infecté en 2010. De plus, 9 autres animaux de ce cheptel avaient été testés en 2008 : 6 animaux DIV et 3 NEG. Par ailleurs, deux autres cheptels de l'étude de Sp_r (parmi les 151 restants) dont les animaux testés étaient négatifs ou divergents au test IFN γ ont été déclarés infectés en 2010 (en 2008 : un cheptel où 2 animaux DIV et 1 NEG et l'autre cheptel où 1 animal DIV et 2 NEG). Il faudrait donc ôter ces 3 cheptels de l'étude de Sp_r du test IFN γ et par conséquent, les 16 animaux (1 POS, 9 DIV et 6 NEG). Toutefois, les valeurs de spécificité ne changeraient pas.

L'ensemble de ces résultats semble donc montrer que la spécificité opérationnelle (Sp_r) évaluée dans ce manuscrit serait en réalité non significativement différente de celle décrite précédemment dans ce paragraphe (§ IV.2), mentionnée par un astérisque (valeurs Sp_r individuelles et finale, Tableaux II.1.16 et II.1.17).

En outre, comme les seules mycobactéries atypiques, *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* et *M. riyadhense* présentant les gènes qui codent pour les protéines recombinantes utilisées dans le test IFN γ modifié (CFP10 et ESAT6) n'ont pas été isolées de bovins en Dordogne, la spécificité du test appliqué sur les bovins de Dordogne serait donc très satisfaisante et les animaux avec un résultat divergent, seulement positif en R pourraient être vraisemblablement considérés comme positifs.

Les résultats divergents, positifs seulement en PPD sont souvent liés à la présence de mycobactéries atypiques mais aussi de *M. avium*. Pour information, *M. nonchromogenicum* a

été identifiée dans plusieurs élevages de Dordogne (dont un cheptel également infecté par *M. bovis*). Toutefois, les animaux avec un résultat divergent, seulement positif en PPD, ne doivent pas être considérés comme négatifs. Ils doivent être étudiés au cas par cas.

En conclusion, la VPP du test IFN γ modifié semble être largement satisfaisante pour qu'un abattage diagnostique soit décidé, quel que soit le contexte épidémiologique (favorable ou non), directement après un résultat positif ou un résultat divergent seulement positif en R sur un animal. Ceci apporterait un gain de temps considérable dans la procédure de diagnostic (puisque la réalisation d'une IDC requiert un temps d'attente de 42 jours entre l'IDS et l'IDC) et permettrait d'éviter que des vrais-infectés ne soient pas abattus (car IDC négative).

V. Nouveaux schémas décisionnels appliqués en Dordogne suite aux modifications réglementaires de 2009

Les tests IFN γ modifié et PCR ont été officiellement reconnus par la réglementation, comme outils de diagnostic (en prophylaxie) et de dépistage (lors d'enquêtes épidémiologiques et de contrôles à l'introduction) et, de confirmation d'infection respectivement. Ils permettent donc en complément des autres tests officiels conventionnels des prises de décision plus rapides et fiables (Cf. Tableau II.3.3).

Ainsi, l'arbre décisionnel concernant la gestion des suspicions lors de prophylaxie qui avait été élaboré et était employé à titre expérimental, a évolué en 2010 (campagne 2009-2010) (Figure II.3.3). De même, un nouvel arbre décisionnel concernant la gestion des suspicions en abattoir a été établi (Figure II.3.4).

En outre, un schéma décisionnel utilisé en cas de possibilité de déroger à l'assainissement par abattage total (selon la lettre à diffusion limitée du 19 février 2009) est également appliqué. Enfin, le test IFN γ est encore utilisé lors d'enquêtes épidémiologiques et de contrôles à l'introduction.

V.1. Nouvelles gestions des suspicions de Tb

V.1.1. Lors de prophylaxie

La reconnaissance règlementaire du test IFN γ comme outil de diagnostic en prophylaxie
(Figure II.3.3)

Le dépistage en prophylaxie est effectué par IDS. En cas de résultat(s) non-négatif(s), la qualification du cheptel est suspendue uniquement (informatiquement dans la base SIGAL) pour le ou les animaux en cours de détermination de statut, le temps que le résultat du test IFN γ soit disponible (une semaine maximum). En effet, cette procédure particulière permet de ne pas supprimer le statut indemne, ce qui nécessiterait un arrêté préfectoral, et donc de ne pas obliger à redonner la qualification par un autre arrêté ; les délais de traitement administratif sont tels que le premier arrêté serait signé au moment de disponibilité des résultats. Cette mention sur SIGAL suffit à limiter les possibilités de commerce de l'élevage avec les mêmes garanties qu'un arrêté. En cas de résultat défavorable au test IFN γ (positif ou divergent), l'arrêté est pris car les procédures suivantes sont plus longues.

Le test IFN γ modifié est ensuite réalisé sur tous les animaux trouvés non-négatifs dans l'élevage (prise de sang lors de la lecture de l'IDS).

Il permet d'affiner ce dépistage tuberculique (environ 20 % de positifs et divergents) rapidement, contrairement à l'IDC (moins d'une semaine contre six) et ainsi de lever rapidement les suspensions de qualification de 80 % des cheptels (suspendus) ce qui permet de réduire les pertes économiques liées à ces suspensions. De plus, le test IFN γ étant réalisé dans un laboratoire, le vétérinaire praticien se trouve d'une certaine façon « libéré » de la décision finale (objective) quant au devenir du cheptel de son client. Il en résulte une incitation aux déclarations des IDS non-négatives.

Grâce à la revalorisation financière des abattages diagnostiques et dans la mesure où les faux positifs au test IFN γ (modifié) sont assez rares (montré précédemment), le recours à l'IDC après un test IFN γ non-négatif est désormais peu fréquent.

En effet, l'abattage diagnostique étant mieux indemnisé (sommes plus réalistes) et par conséquent, mieux accepté, il est réalisé directement après un test IFN γ positif ou divergent c'est-à-dire positif en R (DIV² : PPD- & R+), ce qui permet d'éviter d'attendre un délai de six semaines entre l'IDS et l'IDC. Ceci explique pourquoi le nombre d'abattage diagnostique a ré-augmenté en 2010 par rapport aux années précédentes (plus de 30 cheptels concernés en mai 2010, données DDCSPP 24).

La qualification sanitaire est suspendue pour tout le troupeau (APMS) avant l'abattage diagnostique.

Dans ce protocole appliqué en Dordogne, la différence entre les deux types de résultats divergents (DIV¹ : PPD+ & R- et DIV² : PPD- & R+) est désormais prise en compte.

Un animal avec un résultat négatif en PPD mais positif en R (DIV²) est considéré comme positif (APMS) et est directement abattu sans qu'une IDC ne soit réalisée quel que soit le contexte (favorable ou pas).

Dans le cas d'un animal avec un résultat positif en PPD mais négatif en R (DIV¹) (cas assez rare (très peu de cas dans nos études)), une expertise du cheptel concerné est réalisée par la DDCSPP 24 (tests complémentaires et contexte (liens épidémiologiques, suivi sanitaire, antécédents)).

Si les conclusions de cette expertise sont favorables (cheptel non susceptible (avec aucun risque connu)), le cheptel est requalifié (S1, Figure II.3.3).

A l'inverse, si les conclusions sont défavorables (cheptel susceptible) (S2, Figure II.3.3), la qualification sanitaire est alors suspendue pour tout le troupeau (APMS) et une IDC est réalisée (6 semaines après l'IDS) sur un lot d'animaux dont celui (ou ceux) avec un résultat divergent au test IFN γ (DIV¹). Le ou les animaux avec un résultat divergent sont également recontrôlés avec le test IFN γ .

Si les résultats des tests sont favorables (IDC négatives et tests IFN γ négatifs et/ou DIV¹), l'APMS est levé et le cheptel est requalifié (S3, Figure II.3.3).

Au contraire, si les résultats sont défavorables ((IDC positives et/ou, tests IFN γ négatifs et/ou DIV¹), l'abattage diagnostique de ces animaux est réalisé (S4, Figure II.3.3) un par un.

La reconnaissance règlementaire du test PCR comme outil de confirmation d'infection
(Cf. Figure II.3.3)

L'abattage diagnostique d'un animal a pour but de déceler la présence de lésions macroscopiques évocatrices de tuberculose par inspection de la carcasse. Si plusieurs animaux suspects d'un même cheptel doivent être abattus à des fins diagnostiques, cette procédure d'abattage s'effectue animal par animal.

Dans le cas d'observation de lésions suspectes sur un animal, des échantillons sont alors prélevés en vue d'une confirmation par examens histologique, bactériologique (culture suivie d'une identification si nécessaire) et PCR.

A l'inverse, en l'absence de lésion, un test PCR et une mise en culture sont nécessairement mis en œuvre sur les nœuds lymphatiques suivants : trachéobronchiques, rétropharyngiens et médiastinaux. Le contrôle systématique de ces trois types de ganglions même en l'absence de lésion macroscopique contribue à sécuriser ce dispositif de surveillance (*idem* pour le protocole dérogatoire à l'abattage total). En effet, comme certains vrais infectés précoces, positifs au test IFN γ et/ou non-négatifs à l'IDC, peuvent ne pas présenter de lésion macroscopique suspecte, il s'avère donc utile de réaliser systématiquement une analyse PCR et une mise en culture sur tous les abattages diagnostiques après un résultat positif au test IFN γ ou non-négatif à l'IDC.

Comme cela était déjà prévu dans l'arrêté du 15 septembre 2003 modifié*, si l'animal présente un résultat non-négatif à l'IDC et des lésions histologiques évocatrices de Tb, il est alors reconnu infecté et le cheptel est placé sous APDI. Il en est de même si le bacille tuberculeux est mis en évidence.

Auparavant, dans le cas d'un résultat histologique négatif, il fallait attendre le résultat bactériologique pour prendre une décision sur le statut de l'animal, ce qui entraînait une suspension plus longue du cheptel. Toutefois, si d'autres animaux étaient suspects, l'abattage diagnostique de ces animaux était réalisé afin de tenter de confirmer rapidement l'infection du cheptel (si IDC et histologie +).

L'inclusion du test PCR dans le dispositif réglementaire a donc permis d'ajouter d'autres critères réglementaires pour confirmer ou infirmer plus rapidement l'infection d'un animal.

Si les résultats de l'analyse PCR et de l'histologie sont positifs, cette constatation est alors suffisante pour considérer l'animal infecté et placer le cheptel sous APDI.

De même, (en l'absence de lésion à l'abattoir ou bien en présence de lésions suspectes non confirmées par histologie), la constatation d'un résultat positif en PCR associé à une IDS et/ou une IDC non-négative suffit pour garantir l'infection et placer le cheptel sous APDI.

Il n'est donc plus nécessaire dans ces différents cas d'attendre le résultat de la culture pour confirmer l'infection. Il en résulte un gain de temps considérable (d'au moins 2,5 mois) qui représente un avantage opérationnel déterminant.

Cependant, si les résultats de l'analyse PCR et de l'histologie sont négatifs, cette constatation n'est alors pas suffisante pour considérer l'animal indemne ; il est nécessaire que le résultat bactériologique le soit aussi. Il en est de même en l'absence de lésion suspecte (pas d'histologie réalisée) lorsque le résultat du test PCR est négatif.

Toutefois, comme dans l'étude de sensibilité diagnostique de la PCR, le bacille tuberculeux n'a jamais été isolé chez un animal ayant fourni des résultats négatifs en PCR et histologie, on pourrait alors proposer certaines exceptions, en particulier dans un contexte épidémiologique très favorable de considérer l'animal indemne directement à partir de résultats négatifs en PCR et histologie.

En outre, en l'absence ou présence de lésions suspectes, si tous les résultats obtenus sont également négatifs à l'issue des autres abattages diagnostiques prévus dans le cheptel (absence de lésion et PCR et bactériologie négatives ou, lésions suspectes et histologie et PCR et bactériologie négatives), la qualification du cheptel est alors restituée et l'APMS est levé.

De plus, une confirmation bactériologique est également nécessaire en cas de lésions histologiques évocatrices de Tb associées à un résultat négatif en PCR et en l'absence d'IDC ou si l'IDC est négative (S4, Figure II.3.3). Dans ces deux cas (absence d'IDC ou IDC négative), le résultat du test IFN γ était forcément positif ou divergent pour qu'il y ait eu abattage diagnostique. Une question se pose dans le contexte épidémiologique actuel de la Dordogne où la VPP du test IFN γ est très satisfaisante : un animal positif à la fois au test IFN γ et en histologie ne pourrait-il pas être considéré comme infecté ? Ceci apporterait alors un gain de temps sur les prises de décisions correspondant à cette situation.

Quoi qu'il en soit, comme nous l'avons déjà évoqué, la bactériologie reste l'outil indispensable pour les besoins de caractérisation moléculaire des souches et ainsi permettre d'affiner les enquêtes épidémiologiques.

Cette nouvelle procédure de gestion des suspicions en prophylaxie incluant les tests IFN γ et PCR permet d'établir un diagnostic fiable, rapide et difficilement contestable. De plus, si on tient compte de la revalorisation financière des abattages diagnostiques, le coût d'un tel protocole s'avère au final moins élevé pour les éleveurs.

Toutefois, la condition *sine qua non* de l'efficacité d'un tel protocole est le « filtre IDS », c'est-à-dire qu'il est impératif que la totalité des animaux réagissants en IDS (non-négatifs =

positifs et douteux) dans un cheptel soit déclarée, d'autant plus que l'IDC est de moins en moins pratiquée en Dordogne (Figure II.3.3).

En effet, une sous-déclaration des IDS non-négatives présenterait un risque de requalification à tort d'élevages réellement infectés. Par exemple, un cas de double infection mycobactérienne, par *M. bovis* et une mycobactérie atypique, a été découvert dans un même cheptel cette année en Dordogne (isolement de *M. nonchromogenicum* et *M. bovis* sur des animaux d'un même cheptel dépistés par IDS). Si seulement une partie des animaux non-négatifs en IDS avait été déclarée, alors l'infection par *M. bovis* aurait pu ne pas être diagnostiquée.

V.1.2. En abattoir

Suite à la découverte de lésions suspectes de Tb à l'abattoir, la qualification du cheptel est suspendue (avec APMS) et des prélèvements de tissus lésés sont réalisés afin de confirmer ou d'infirmer la suspicion de Tb par examens histologique, bactériologique (culture et identification si nécessaire) et PCR (Figure II.3.4).

Comme dans le cas d'un abattage diagnostique, si les résultats de l'analyse PCR et de l'histologie sont positifs, cette constatation est alors suffisante pour considérer l'animal infecté et placer le cheptel sous APDI.

Il n'est donc plus nécessaire dans le cas de résultats concordants entre la PCR et l'histologie pour un même animal d'attendre le résultat de la culture pour confirmer ou infirmer l'infection. Il en résulte un important gain de temps qui s'avère crucial d'un point de vue opérationnel (diagnostic établi en quelques jours au lieu d'au moins 2,5 mois).

Cependant, si un animal est négatif en PCR et histologie, cette constatation doit alors être confirmée par la bactériologie pour que l'animal soit reconnu indemne de Tb. Comme nous l'avons évoqué pour les abattages diagnostiques, il serait envisageable dans le cas d'une suspicion à l'abattoir dans un contexte épidémiologique très favorable, de pouvoir conclure l'absence d'infection chez un animal ayant obtenu des résultats négatifs au test PCR et en histologie.

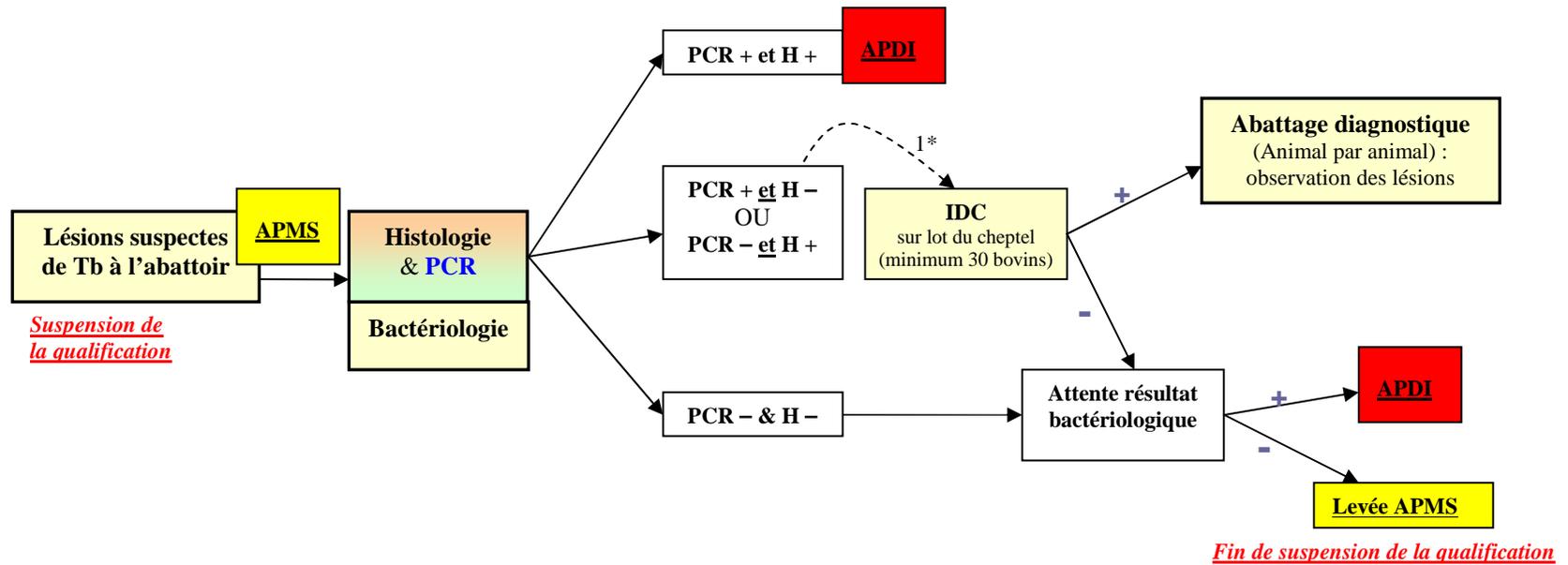


Figure II.3.4. Nouveau schéma décisionnel à partir d'une suspicion de Tb en abattoir, appliqué en Dordogne en 2010 suite à l'Arrêté du 19/08/09.

1* : Réalisation d'IDC sur un lot d'animaux du cheptel sans attendre le résultat bactériologique, en vue d'une confirmation rapide de l'infection sur un autre animal du cheptel.

Dans le cas de résultats discordants entre la PCR et l'histologie, des IDC sont pratiquées sur un lot d'animaux du cheptel (minimum 30).

Si les résultats des IDC sont tous négatifs, il est alors nécessaire d'attendre le résultat bactériologique pour garantir l'absence d'infection et ainsi restituer la qualification sanitaire au cheptel concerné ou bien confirmer l'infection tuberculeuse et donc déclarer le cheptel infecté (APDI).

Par contre, un abattage diagnostique de tous les animaux réagissants à l'IDC est réalisé afin de tenter de confirmer rapidement l'infection (si IDC non-négative et histologie et/ou PCR +).

Toutefois, le pourcentage de résultats discordants entre la PCR et l'histologie, obtenus dans l'étude de la sensibilité diagnostique de la *PCR2b* était relativement faible et en majorité confirmé par la bactériologie (7/67 animaux dont 5 *Bact.*+), avec quasiment autant de résultats seulement positifs en PCR (3 animaux) qu'en histologie (4 animaux). De plus, les résultats de notre étude ont montré que la VPP de la *PCR2b* était excellente vis-à-vis des tests officiels (toutes les PCR+ confirmées par *Hist.* et/ou *Bact.*).

Or, étant donné les performances du test IFN γ sur des animaux non-négatifs en IDS, il serait intéressant pour optimiser la sensibilité de détection, dans le cas de résultats positifs en PCR et négatifs en histologie, de tester la totalité des animaux en IDS à la place d'un lot en IDC, et ensuite de réaliser une analyse IFN γ sur tous les animaux non-négatifs en IDS (idem au protocole de gestion des suspicions en prophylaxie). Enfin, seuls les animaux non-négatifs au test IFN γ seraient abattus à des fins diagnostiques.

V.2. Contrôles à l'introduction et enquêtes épidémiologiques

La question des contrôles à l'introduction est délicate. Indispensable en situation de persistance de risque, en situation indemne, elle est non seulement inutile, mais contre-productive, car elle ne produit pratiquement que des résultats faussement positifs, responsables de conséquences hautement dommageables pour les cheptels vendeurs. C'est pourquoi il est réglementairement admis depuis 2005 de dispenser les élevages, sous certaines conditions, de ce contrôle.

Le contrôle doit être maintenu dans les situations à risque, par exemple pour les échanges entre élevages à l'intérieur d'un département où des foyers suffisamment nombreux d'infection persistent. Il est très contestable pour les échanges à partir de départements indemnes.

Lorsque les échanges doivent être maintenus, on sait que le risque maximal d'erreur par excès est associé au stress du transport. Il conviendrait donc de réaliser les contrôles chez le vendeur, ce qui n'est pas usuel en droit français, la charge de la vérification de la qualité de la chose achetée incombant traditionnellement à l'acheteur. Dans la logique de l'évolution vers un droit conforme aux pratiques communautaires, il serait logique de faire procéder à ce contrôle chez le vendeur, ce qui résoudrait les problèmes de réactions non spécifiques et des conséquences éventuelles pour le statut du cheptel du vendeur.

Lors de contrôles à l'introduction à l'intérieur d'un département infecté (comme la Dordogne), il est nécessaire de maximiser la sensibilité du dépistage et de disposer d'une meilleure spécificité. Suite à un commun accord entre l'acheteur et le vendeur, le test IFN γ modifié pourrait donc désormais être employé en parallèle avec l'IDS lors de ces contrôles (test à la charge de l'acheteur). Si les résultats des deux tests sont négatifs, l'animal peut alors être introduit dans le cheptel de destination. Toutefois, si un lot d'animaux d'un même cheptel doit être introduit, il est impératif que tous les animaux obtiennent des résultats négatifs pour autoriser leur introduction. En effet, un résultat non-négatif à l'IDS ou au test IFN γ suffirait pour annuler l'introduction du bovin (et s'il y a lieu des autres bovins même si négatifs).

Lors d'enquêtes épidémiologiques, des contrôles tuberculiques sont réalisés sur les animaux issus de cheptels susceptibles (ou sur tout le cheptel). Le test IFN γ modifié peut donc désormais être employé en parallèle avec l'IDS (pour maximiser le dépistage) ou en série avec l'IDS (sur les animaux non-négatifs en IDS).

V.3. Assainissement par abattage partiel

Dans le cadre d'un assainissement par abattage partiel, il s'avère également fondamental de maximiser la sensibilité du dépistage.

Le recours au test IFN γ modifié, plus sensible que l'IDS, est donc indispensable selon le protocole actuellement préconisé par les textes (emploi en parallèle à l'IDS), de manière à optimiser la sensibilité de détection des animaux infectés avec une limite de 5 % maximum d'animaux positifs (PCR positive ou culture positive ou [IDS non-négative et test IFN γ positif]) au-delà duquel la diffusion de l'infection est considérée comme telle qu'un abattage total doit être décidé.

Cela permet de réduire au niveau minimum le risque de faux négatif, c'est-à-dire de ne pas détecter un animal infecté. Ainsi, dans ce contexte défavorable, les animaux avec un résultat divergent sont considérés comme positifs et donc sont abattus à des fins diagnostiques (mode d'interprétation PPDUR).

La méthode PCR est également nécessaire dans ce protocole car aussi sensible que la culture et de spécificité largement satisfaisante chez les bovins, elle permet de confirmer l'infection rapidement. Elle permet notamment de détecter rapidement des animaux infectés depuis longtemps qui présenteraient une réponse anergique vis-à-vis de l'un des tests immunologiques.

VI. Bilan et Travaux en perspectives

L'évaluation des tests IFN γ et PCR a donc été réalisée en fonction de la disponibilité des prélèvements. En effet, le type d'échantillons collectés pour l'étude dépendait d'une décision respectant la réglementation. Nos échantillonnages n'étaient donc pas totalement maîtrisés mais étaient représentatifs de la situation sur le terrain. Or, l'épidémiologie permet de valoriser des situations d'observation (par modélisation, veille sanitaire, sur le terrain) et y compris des situations où l'observateur ne maîtrise pas suffisamment la composition de ses échantillons ; tel est le cas de l'approche sur le terrain.

De plus, l'erreur de classement des élevages indemnes est faible car il est limité au taux d'incidence qui est faible. Ce risque n'est donc pas de nature à remettre en question nos conclusions.

Nous avons utilisé une démarche scientifique permettant de réduire l'incertitude de décision, tout en en appréciant les limites. En effet, concernant le test IFN γ , pour que le risque d'erreur dans les prises de décision soit le plus faible possible, la portée de nos résultats est limitée au milieu étudié. Afin de réduire ces limites, différents travaux doivent donc être entrepris.

L'évaluation des tests doit être poursuivie en Dordogne. Il est indispensable d'assurer un suivi des élevages indemnes inclus dans nos études de spécificité du test IFN γ modifié afin de vérifier l'absence de changement de statut.

De plus, dans les études rétrospectives de spécificité opérationnelle et de sensibilité relative, la totalité des animaux n'a pas pu être testée le même jour par rapport à l'IDS. Dans ces conditions, nous n'avons pas pris en compte ces variabilités dans l'évaluation des

performances du test IFN γ , bien que la littérature montre l'influence de l'IDS sur les résultats du test. L'effet potentialisateur ou inhibiteur de l'IDS devrait être évalué. Cependant, cette étude est-elle réalisable en conditions d'infection naturelle ? En effet, les facteurs d'ordre logistiques (prélèvements multiples) et privé (au bon vouloir de l'éleveur si absence d'obligation, nécessité de volontaires) sont des obstacles à la mise en place et au bon déroulement de l'étude. Par exemple, il n'est pas toujours possible de retester expérimentalement (sans obligation réglementaire) un animal reconnu négatif en raison du risque qu'il soit retrouvé positif et des conséquences liées à cette découverte, pour le cheptel.

Il serait également utile de rechercher dans quelle proportion les cheptels étudiés sont-ils atteints de paratuberculose ? En effet, la paratuberculose est actuellement une des raisons explicatives les plus importantes de résultats faussement positifs de tests indirects de recherche de la Tb, comme le test IFN γ (Walravens K. *et al.*, 2002 ; Aranaz A. *et al.*, 2006 ; Alvarez J. *et al.*, 2009 ; Aagaard C. *et al.*, 2010).

Pour compléter l'évaluation de la sensibilité du test PCR par comparaison avec la bactériologie, il serait envisageable de comparer les valeurs de Ct en fonction du délai d'apparition et du nombre de colonies. Cette étude permettrait d'estimer le gain de temps lié à l'utilisation du test PCR par rapport à la bactériologie, mais aussi de déterminer, en fonction du type de prélèvements par exemple, combien sont détectés faiblement positifs par PCR mais non confirmés par la bactériologie.

En outre, les échantillonnages de nos études de sensibilité des deux tests sont composés d'animaux pour lesquels des lésions macroscopiques évocatrices de Tb ont été observées à l'abattoir. Il existe donc un biais de sélection car de nombreux animaux infectés peuvent ne pas présenter de lésion visible (Corner L.A., 1994). Il serait donc utile d'étudier ce type d'animaux puisque des données sont désormais disponibles en raison de l'usage systématique du test PCR et de la bactériologie sur des ganglions sans lésion depuis un peu moins d'un an (campagne 2009-2010). Cependant, il est important de souligner que sur un plan pragmatique, nos conclusions restent valables puisque la plupart des foyers, hormis la Dordogne et la région Bourgogne, continue à être découverts à l'abattoir. Ceci pourrait néanmoins changer étant donné les bons résultats obtenus en Dordogne et Côte d'Or.

Concernant l'évaluation du test IFN γ modifié, la validité des résultats est limitée au département de la Dordogne. Afin de vérifier si ces variations de composition des échantillons ne sont pas de nature à contester nos résultats, il est donc nécessaire de prolonger

ces travaux dans d'autres départements qui auront des situations épidémiologiques différentes.

Par ailleurs, dans les départements de France affectés par la tuberculose bovine, comme la Côte d'Or, des foyers apparaissent dans la faune sauvage. Or, les enquêtes réalisées en Dordogne sur près de 400 prélèvements en 2005-2006 et sur plus de 70 prélèvements en 2006-2007 n'avaient mis en évidence aucun foyer. Néanmoins, en janvier 2010, un cerf porteur de lésion a été reconnu infecté de Tb. De même, en mai 2010, deux blaireaux ont été détectés positifs par PCR et histologie. Au regard de la situation épidémiologique des bovins en Dordogne en mai 2010, une enquête sur la faune sauvage (sangliers, cerfs et blaireaux) s'imposait. Elle est programmée pour la saison de chasse prochaine (2010-2011), notamment par usage systématique du test PCR couplé ou non à la bactériologie.

Enfin, pour que le test IFN γ soit utilisé de façon règlementée dans toutes les régions de France, il est nécessaire que les Ag spécifiques ESAT6 et CFP10 soient inclus au test IFN γ Bovigam[®] en raison d'une faible prévalence nationale de Tb et d'une importante proportion de réactions atypiques envisageable dans certaines régions. De plus, il est crucial que les laboratoires réalisant les tests IFN γ modifié soient tous expérimentés et agréés et, qu'ils soient en particuliers localisés dans les régions infectées. En effet, la proximité du laboratoire est en faveur de bonnes conditions d'acheminement des prélèvements au laboratoire, une étape critique à respecter pour que l'analyse soit réalisable.

Il en est de même pour le test PCR qui est une technique délicate nécessitant une formation et de l'expérience. Un réseau de laboratoires agréés pour ce test comme pour la bactériologie permettrait de disposer de résultats comparables avec une méthode validée.