



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 7 novembre 2008

Avis

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'élaboration d'un protocole pour le suivi d'un troupeau bovin infecté de tuberculose abattu partiellement en vue de sa requalification

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine

L'Afssa a été saisie le 9 juin 2008 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis concernant l'abattage partiel des troupeaux bovins reconnus infectés de tuberculose. Cette demande tient compte du développement de nouveaux outils de dépistage de la tuberculose bovine (test interféron-gamma et PCR) qui, appliqués au suivi des cheptels reconnus infectés, peuvent permettre d'envisager des modalités d'assainissement moins drastiques que l'abattage total actuellement imposé. La demande concernait plus précisément « *l'élaboration d'un protocole pour le suivi d'un troupeau abattu partiellement en vue de sa requalification et ce, en l'état actuel des connaissances concernant les tests de diagnostic* ». Il était par ailleurs demandé à l'Afssa de préciser le niveau de risque pris par la mise en œuvre d'un tel protocole.

Avis du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SA), réuni le 15 octobre 2008, formule l'avis suivant :

« Contexte et questions posées

Limites du champ de l'expertise

Compte tenu de l'existence d'un groupe de travail « Tuberculose » au sein de la DGAI et des travaux réalisés par ce groupe portant notamment sur l'élaboration d'un protocole relatif à l'abattage partiel, l'Afssa a souhaité prendre connaissance des travaux de ce groupe de travail avant de fournir une réponse à la question posée le 9 juin 2008.

Le protocole élaboré par le groupe de travail de la DGAI a été transmis à l'Afssa début septembre 2008.

Le 17 septembre 2008, est paru un arrêté (arrêté du 4 septembre) relatif à l'abattage partiel à titre expérimental de certains troupeaux de bovins infectés de tuberculose dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne. Cet arrêté rend possible l'abattage partiel par dérogation à la règle nationale dans les deux départements susmentionnés sous réserve de la mise en place d'un protocole expérimental dont les modalités devront être fixées par instruction.

La question posée à l'Afssa et relative à l'abattage partiel correspond donc à l'expertise du protocole technique proposé par la DGAI en vue, très vraisemblablement, de la rédaction de cette instruction.

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

Situation épidémiologique

Bien que la France soit reconnue « officiellement indemne de tuberculose bovine » depuis 2001 (Décision 2001/26/EC), quelques dizaines de foyers de cette maladie y sont encore régulièrement observés chaque année (tableau 1). Cette situation néanmoins, comme le permet la directive européenne 64/432/CEE, ne remet pas en cause pour le moment le statut officiellement indemne du pays.

Tableau 1 : Evolution de l'incidence des foyers de tuberculose bovine en France entre 2003 et 2006 (source DGA)

Année	2003	2004	2005	2006
Nombre de nouveaux foyers de tuberculose	55	42	64	83

Le nombre de nouveaux foyers, tout en restant limité, semble croître au cours des dernières années ; mais il s'agit, pour la plupart, de foyers résiduels concentrés en particulier dans trois zones : la Camargue, la Dordogne et la Côte-d'Or.

Les raisons de ces situations particulières sont multiples. Le rapport du groupe de travail de la DGA indique :

- pour la Dordogne : « une nette sous-estimation de la prévalence de l'infection, probablement liée à de mauvaises pratiques de réalisation des tests sur le terrain » et « une sous-déclaration des réactions positives » ;
- pour la Côte-d'Or : « la baisse de la vigilance des acteurs de la prophylaxie » ;
- enfin, pour la Camargue, les raisons invoquées concernent le type d'élevage particulier à cette région, rendant la réalisation des tests intradermiques sur les animaux et leur lecture, particulièrement difficiles.

Evolution de la réglementation concernant l'abattage des animaux dans les foyers

En 2003, l'administration française a profondément remanié le dispositif de lutte contre la tuberculose bovine (arrêté du 15 septembre 2003) pour tenir compte de la situation sanitaire globalement satisfaisante. Une des modifications importantes introduites dans ce texte était la mise en œuvre d'un abattage total en cas de découverte d'un foyer de tuberculose (mise en évidence de *Mycobacterium bovis* ou tuberculosis), quel que soit le nombre d'animaux réagissants du troupeau. Avant cette date, l'abattage total n'était pratiqué que dans les foyers dans lesquels 5% au moins des animaux étaient trouvés réagissant aux tests tuberculiques mis en œuvre ; les autres foyers étant assainis par abattage partiel.

Cette mesure d'instauration de l'abattage total a été justifiée à l'époque, à la fois par la pratique d'autres pays membres de l'Union Européenne (Allemagne, Autriche, Danemark, Finlande, Pays-Bas, Suède notamment) et par la volonté de prévenir tout risque de résurgence et de diffusion liés au maintien dans les troupeaux infectés de bovins restant « négatifs » aux tests de dépistage mis en œuvre mais néanmoins infectés et excréteurs potentiels.

Actuellement, et en tenant compte de l'apparition de nouveaux outils de diagnostic (cf. infra), un protocole d'abattage partiel a été élaboré. Son objectif n'est pas clairement défini. Il apparaît toutefois, à l'analyse du texte, qu'il vise à optimiser le rapport coût/bénéfice de l'abattage pour les élevages où la tuberculose n'est pas évolutive et qui présentent donc peu de risque de diffusion.

Il faut également signaler qu'il n'est pas précisé dans la saisine du 6 juin 2008 si le protocole d'abattage partiel est destiné à être appliqué dans tous les départements français, ou s'il est spécifiquement réservé à certaines situations encadrées (race d'intérêt local, zones particulières).

Difficultés d'application du dispositif d'abattage total

Le rapport du groupe de travail de la DGAI fait le constat de la rémanence de la tuberculose dans les zones non encore assainies malgré les efforts entrepris. Il souligne un certain découragement des acteurs locaux, relatif notamment au fait que depuis quelques années de nombreux foyers identifiés en Dordogne comme en Côte-d'Or ne comprennent qu'un nombre très faible d'animaux tuberculeux (un ou deux animaux chez lesquels le bacille de la tuberculose a pu être isolé) alors que les abattages totaux ont été suivis d'inspections systématiques à l'abattoir et de nombreuses investigations de laboratoire. Ces constatations ont conduit les membres du groupe de travail de la DGAI à s'interroger sur le rapport coût/bénéfice de l'abattage total dans de telles situations.

Apparition de nouveaux outils de diagnostic

Les stades précliniques de la tuberculose bovine peuvent être détectés chez l'animal vivant en utilisant des tests de l'immunité à médiation cellulaire. Les tests cutanés sont les plus connus. Il s'agit de l'intradermo-tuberculation simple (IDS) et de l'intradermo-tuberculation comparative (IDC).

A la fin des années 1980, un test de dosage d'une cytokine, l'interféron gamma ($INF\gamma$), a été développé en Australie pour le diagnostic de la tuberculose bovine. Ce test a été approuvé comme méthode officielle de diagnostic de la tuberculose bovine en 1991 en Australie et à la fin des années 1990 en Nouvelle-Zélande. Il est actuellement assez largement utilisé dans plusieurs Etats membres de l'Union Européenne, dont le Royaume-Uni.

D'autres tests ont été développés beaucoup plus récemment et certains sont toujours en cours d'évaluation. Il s'agit essentiellement de tests de détection d'anticorps (par exemple : Ritacco et al., 1991 ; Saegerman et al., 1995 ; Pollock and Neil, 2002 ; Vordemeier et al., 2004 ; Welsh et al., 2005) et de tests PCR (par exemple : Vitale et al., 2003 ; Sreedevie et Krishnappa, 2004).

Bien que les tests sérologiques soient attractifs, ils sont généralement moins sensibles que l'IDS, l'IDC ou l' $INF\gamma$. L'utilisation d'antigènes spécifiques immuno-dominants (par exemple : le MPB70 et le MPB83) en améliore la spécificité sans toutefois améliorer la sensibilité (de la Rua-Domenech et al., 2006).

Le principal avantage des tests PCR est une identification précoce des mycobactéries en culture (ou directement sur un broyat de nœuds lymphatiques). Toutefois, jusqu'à ce jour, les tests PCR ne sont pas supérieurs à la culture en termes de sensibilité, spécificité et fiabilité.

Ainsi, hormis l'IDS et l'IDC, seuls l' $INF\gamma$ et les tests PCR sont utilisables actuellement.

Méthode d'expertise

L'expertise collective a été réalisée sur la base d'un rapport initial rédigé par trois rapporteurs qui a été présenté, discuté en séance et validé par moyens télématiques par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », réuni le 15 octobre 2008.

Elle a été conduite sur la base :

- des documents suivants :
 - étude des documents fournis par le demandeur :
 - lettre du demandeur en date du 9 juin 2008 ;
 - protocole d'abattage partiel émanant de la préfecture de Côte-d'Or signé R. P. Lomi du 9 juillet 2008 et produit par la DGAI ;
 - arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et des caprins ;

- projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et caprins ;
 - projet de note de service sur les modalités de mise en œuvre du test de dosage de l'interféron gamma pour le dépistage de la tuberculose bovine dans les cheptels de race d'intérêt local ;
 - fiche de présentation de ce projet d'arrêté et de cette note de service ;
 - étude comparative des résultats des tests de dépistage de la tuberculose (interféron gamma et intradermotuberculination) et des lésions suspectes de tuberculose dans les cheptels bovins de la zone de Camargue, Bouches-du-Rhône, Gard et Hérault du 12 septembre 2007, signée S. Cadorel et N. Keck ;
 - bilan de l'étude de spécificité du test Bovigam réalisée sur le cheptel de Camargue signé par N. Keck ;
 - note d'information DGAL/SDSPA/02008-8006 du 17 mars 2008 présentant le bilan du rapport annuel ruminants 2006 ;
- l'arrêté du 4 septembre 2008 relatif à l'abattage partiel à titre expérimental de certains troupeaux de bovins infectés de tuberculose dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne ;
 - l'avis de l'Afssa 2005-SA-0329 relative à la pertinence de l'abattage total d'un troupeau de bovins infectés de tuberculose, y compris lors de résultats à l'intradermo-tuberculination comparative ;
 - l'avis de l'Afssa 2008-SA-0084 relative à l'évaluation du risque en matière de tuberculose dans un élevage de Dordogne.
- de la discussion entre les experts du CES SA et les rapporteurs.

Argumentaire

Analyse de la qualité des tests disponibles

La qualité des tests disponibles sur le vivant, essentiellement l'IDS, l'IDC et le test INF γ , peut être évaluée en prenant en compte leurs sensibilité et spécificité diagnostiques respectives, ainsi que leur précocité à détecter la tuberculose bovine.

- Selon la revue réalisée par la Rua-Domenech et al., la sensibilité de l'IDS est comprise entre 63,2 et 100 % avec une valeur médiane de 83,9 %. La spécificité de l'IDS est comprise entre 75,5 % et 99,0 % avec une valeur médiane de 96,8 % (). L'IDS réalisée à l'encolure est plus sensible et moins spécifique que l'IDS réalisée au pli sous-caudal (Francis et al., 1978 ; Monaghan et al., 1994). Par ailleurs, l'activité des tuberculines doit être estimée par des méthodes biologiques, estimation fondée sur la comparaison avec des tuberculines standards, et l'activité est exprimée en unités internationales (UI). Dans plusieurs pays, la tuberculine bovine est considérée comme acceptable si son activité estimée garantit chez les bovins au moins 2 000 UI par dose bovine. Chez les bovins avec une sensibilité allergique diminuée, une dose plus élevée de tuberculine bovine est nécessaire, et dans les campagnes d'éradication nationale des doses jusqu'à 5 000 UI sont recommandées (OIE, 2008).

- L'IDC a une sensibilité comprise entre 52,0 % et 100 %, avec une valeur médiane de 80,0 % (93,5 % en cas d'interprétation très rigoureuse). La spécificité est comprise entre 78,8 % et 100 % avec une valeur médiane de 99,5 % (de la Rua-Domenech et al., 2006).
- Le test $INF\gamma$ utilisant de la tuberculine PPD bovine et aviaire comme antigènes (Bovigam®, Prionics, Suisse) a été utilisé dans plusieurs études et des informations fiables sont disponibles. Il présente une sensibilité comprise entre 73,0 et 100 % avec une valeur médiane de 87,6 %. La spécificité est comprise entre 85,0 % et 99,6 % avec une valeur médiane de 96,6 %. Bien qu'il soit considéré comme plus précoce que l'IDS et l'IDC (Coad et al., 2008), un faible nombre d'animaux infectés réagissent aux tests cutanés mais pas au test $INF\gamma$ (Pollock et al., 2005). Les avantages et les inconvénients du test interféron gamma ($INF\gamma$) en comparaison avec les tests intradermiques sont résumés dans le tableau 2 (d'après de la Rua-Domenech et al., 2006).

Tableau 2 : Avantages et inconvénients de l'interféron gamma utilisé dans le diagnostic de la tuberculose bovine par rapport aux tests intradermiques

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ▪ sensibilité similaire à l'IDS et supérieure à l'IDC ; ▪ réponse développée plus précocement que les tests cutanés, en une à cinq semaines après l'infection (trois à six semaines pour les tests cutanés) ; ▪ contrairement aux tests cutanés, l'$INF\gamma$ ne nécessite pas un délai avant de répéter un nouveau test. A noter qu'un test cutané effectué récemment peut augmenter la réponse à un test $INF\gamma$ réalisé ultérieurement ; ▪ une seule visite en ferme ; ▪ interprétation des résultats plus objective et plus standardisée ; ▪ réduit les risques associés aux tests cutanés (possibilité de fraude par exemple) ; ▪ rend possible l'inclusion de différents antigènes et leur interprétation (utile dans un contexte de réactions non spécifiques par exemple). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ apparente faible spécificité. Toutefois l'utilisation d'antigènes protéiques particuliers tels que l'ESAT 6 (early secretory antigenic target protein) et le CFP 10 (culture filtrate protein) permet d'augmenter la spécificité ; ▪ une faible proportion d'animaux infectés réagissent aux tests cutanés mais pas au test $INF\gamma$ (Pollock et al., 2005) ; ▪ des réactions non spécifiques ont été observées chez les jeunes animaux (Olsen et al., 2005) ; ▪ difficultés logistiques (incubation à réaliser quelques heures après le prélèvement) ; ▪ coût élevé ; toutefois, il ne nécessite pas un retour en ferme et son automatisation est possible.

L'utilisation du test $INF\gamma$ nécessite le respect d'une procédure stricte (prélever le sang avant l'injection de tuberculine et en aucun cas au moment de la lecture d'une intradermo-tuberculation ainsi qu'acheminer rapidement les prélèvements au laboratoire ; idéalement dans les 12 heures).

La stratégie qui consiste à utiliser l'IDS et $INF\gamma$ en parallèle a été évaluée antérieurement en Australie (Wood et al., 1991). Elle permet d'augmenter la sensibilité globale jusqu'à 95,2 % (IC 95 % : 89,8 à 98,2 %) avec une spécificité globale de 98,5 % (IC 95 % : 91,2 à 98,8 %) (Wood et al., 1991). Toutefois, depuis lors, des antigènes plus spécifiques sont régulièrement utilisés dans le test $INF\gamma$ (ESAT-6 et CFP 10) mais des études à large échelle concernant ces antigènes font encore défaut.

- Concernant les tests PCR, il faut rappeler que la méthode d'extraction de l'ADN est une phase cruciale et que celle-ci conditionne le résultat final du test. De plus, de nombreuses techniques PCR existent et elles ne sont pas toutes équivalentes.

Il conviendra que les kits INF γ et PCR utilisés, dans le cadre du protocole expérimental proposé, soient évalués et agréés régulièrement par le Laboratoire national de référence (LNR).

Analyse du protocole proposé

Description du protocole

Le protocole proposé comprend des critères d'inclusion, un protocole d'assainissement et un protocole de requalification.

▪ Critères d'inclusion

Le protocole proposé distingue deux types de zones :

- *les zones présentant des garanties sanitaires (zone jusqu'ici considérée indemne et dans laquelle un foyer apparaîtrait) ;*
- *les zones à « forte » prévalence (cas par exemple de la Dordogne et de la Côte-d'Or où le taux de prévalence des cheptels, tout en étant supérieur à celui des autres départements français, reste tout de même relativement bas, en tout cas inférieur à 1 %).*

*Pour les zones présentant des garanties sanitaires, il est proposé que seuls puissent bénéficier d'un abattage partiel, d'une part, les élevages pour lesquels la présence de Mycobacterium tuberculosis ou bovis est mise en évidence chez un seul animal, d'autre part, les élevages dont un seul animal présente à l'abattoir une lésion des nœuds lymphatiques stabilisée. Dans les deux cas, les élevages doivent, en outre, présenter des garanties sanitaires permettant de prévenir une éventuelle diffusion de l'infection. Tant que l'agent pathogène n'est pas mis en évidence une deuxième fois (isolement de la souche ou PCR positive **et** histologie positive), ces élevages continuent à bénéficier du protocole d'abattage partiel.*

*Pour les zones à « forte » prévalence, il est proposé que seuls les troupeaux dans lesquels l'infection tuberculeuse (isolement de la souche ou PCR positive **et** histologie positive) est mise en évidence sur moins de 2 % des animaux du troupeau (cumulé), puissent bénéficier du protocole d'abattage partiel.*

▪ Protocole d'assainissement

Le protocole d'assainissement proposé est identique quelle que soit la zone dans laquelle il est appliqué (zone présentant des garanties sanitaires ou zone de « forte » prévalence). Pour améliorer la détection des animaux infectés, ce protocole prévoit d'utiliser en parallèle l'IDS et le test INF γ .

Le protocole proposé implique la mise en œuvre d'une série de tests sur tous les animaux de plus de six semaines et l'abattage diagnostique de tous les animaux trouvés « positifs » à l'un de ces deux tests dans le but de rechercher l'agent pathogène (culture et PCR) dans les nœuds lymphatiques de tous les animaux abattus, même en l'absence de lésion. L'élevage est considéré assaini une fois que tous les animaux présents se sont révélés « négatifs ».

▪ Protocole de requalification

Dans le protocole proposé, la requalification du cheptel dépend de l'obtention de résultats entièrement négatifs à l'issue de deux contrôles espacés de six mois sur tous les bovins âgés de plus de six semaines. Le premier de ces contrôles doit être réalisé deux mois après le contrôle d'assainissement, en utilisant à la fois l'IDS et le test INF γ . Le second est réalisé seulement avec l'IDS.

Commentaires du CES SA sur le protocole proposé

- Commentaires sur le recours à l'abattage partiel dans le contexte actuel

Les arguments ayant présidé à la mise en œuvre de l'abattage total en 2003, rappelés dans l'avis de l'Afssa 2005-SA-0329, sont encore tout à fait valables. Actuellement, une possibilité d'abattage partiel est prévue par la réglementation en cours (arrêté du 15 septembre 2003) pour préserver le patrimoine génétique de certaines races. Un protocole d'abattage partiel utilisant notamment le test INF γ a donc été appliqué en Camargue depuis plusieurs années. Ce protocole a été mis en place dans 17 foyers camarguais. Dans six cas, ce protocole s'est terminé par l'abattage total du fait de la durée de l'assainissement (supérieure à deux ans) ou à cause du taux d'infection mis en évidence. Pour onze foyers, il a permis d'aboutir à la requalification du troupeau.

Par ailleurs, il faut rappeler que l'abattage partiel était quasiment la règle dans les foyers de tuberculose bovine en France dans les années 1970 à 1990 et que les protocoles mis en place permettaient d'aboutir dans la plupart des cas à un assainissement correct et une requalification des élevages concernés. Les résurgences de l'infection dans ces troupeaux ont, bien sûr, existé mais elles n'ont pas été très fréquentes.

Un abattage partiel peut donc être efficace et il permet indéniablement de préserver le potentiel génétique des troupeaux infectés. D'un autre côté, il engendre un double risque de diffusion de l'infection :

- *localement, par voisinage, pendant la période d'assainissement, forcément longue, compte tenu de l'intervalle obligatoire entre les séries de tests ;*
- *plus rarement, à distance, lors du recouvrement de qualification permettant la commercialisation des animaux des troupeaux dans lesquels une tuberculose latente serait passée inaperçue.*

Pour ces raisons, si un protocole d'abattage partiel est utilisé, il est nécessaire de tenter de limiter, autant que faire se peut, ces deux risques.

Par ailleurs, il paraît important de rappeler que ce dispositif, ainsi que l'indique la DGAI dans sa saisine, devrait être appliqué à titre expérimental. Il convient donc d'associer le LNR aux travaux dès la mise en place du protocole et de recommander un retour d'expérience correspondant à un suivi précis des résultats de ce protocole, notamment une évaluation de l'apport de l'emploi de INF γ dans le processus d'assainissement afin que des enseignements puissent être tirés et des ajustements effectués, le cas échéant.

Enfin, il est important de rappeler que la réussite d'un protocole d'abattage partiel dépend, en grande partie, de la rigueur avec laquelle ce protocole est appliqué (notamment du respect des délais de re-contrôle). Il est paradoxal et inquiétant que ce protocole d'abattage partiel soit justement élaboré pour être utilisé dans des zones où la situation épidémiologique est moins bonne du fait de « mauvaises pratiques » et de « défaut de vigilance » antérieurs constatés dans ces zones.

- Commentaires sur les critères d'inclusion

Les critères d'inclusion actuellement présentés manquent de clarté et de logique.

En effet, actuellement, le texte ne permet pas très clairement de comprendre que le critère des 2 % d'animaux infectés pour les zones à « forte » densité » concerne des animaux chez lesquels la présence du bacille tuberculeux a été mise en évidence. Ce sont les informations complémentaires obtenues auprès de la DGAI qui ont permis d'éclaircir ce point.

Si l'on admet que l'abattage partiel peut être pratiqué dans une région de « forte » prévalence, il n'y a aucune logique à proposer des critères d'inclusion moins sévères pour ce type de zone que pour une zone présentant des garanties sanitaires satisfaisantes. Sur le plan épidémiologique, c'est plutôt le contraire qui devrait être proposé. Cependant, il peut être admissible que les critères soient finalement identiques, sous la réserve (actuellement prévue dans le texte, mais uniquement pour les zones à garanties sanitaires) que les troupeaux éligibles au protocole dérogatoire ne présentent pas de risque important de diffusion de l'infection.

Actuellement, le protocole ne prévoit pas de prendre en compte, comme critère susceptible d'entraîner la décision d'interrompre le protocole d'abattage partiel, le pourcentage d'animaux réagissant aux tests réalisés dans le troupeau. Ceci ne paraît pas optimal. Ainsi, selon le protocole proposé, un troupeau reconnu infecté, à la suite de la mise en évidence d'une souche de *M. bovis* sur un seul animal pourrait poursuivre la démarche d'abattage partiel même si 20 % (par exemple) des animaux testés dans le troupeau lors du premier test d'assainissement présentent une réponse positive à l'un des tests mis en œuvre (l'IDS ou le test $INF\gamma$). Ceci peut conduire à ne pas éliminer suffisamment précocement un troupeau à risque. Le CES SA propose qu'à partir d'un seuil de 5 % (cumulé) d'animaux réagissants (c'est-à-dire à réponse positive à l'un et/ou l'autre des deux tests : IDS ou $INF\gamma$) l'abattage total soit appliqué.

- Commentaires sur le protocole d'assainissement

Le protocole d'assainissement tel que proposé semble globalement cohérent et apparaît présenter des garanties suffisantes.

En effet, Il paraît intéressant de coupler pendant l'assainissement les tests d'intradermoréaction avec des tests $INF\gamma$ qui permettent d'améliorer la sensibilité et la précocité de la détection des animaux infectés.

Le fait de rechercher, par des analyses systématiques, l'agent pathogène sur les animaux abattus est également une mesure intéressante qui permettra, en cas de résultat positif, de confirmer le caractère contagieux du troupeau et la nécessité d'un recours à l'abattage total immédiat.

Néanmoins, pour diminuer encore les risques de diffusion, le CES SA propose que l'abattage ne se limite pas aux seuls animaux réagissants (c'est-à-dire à réponse positive à au moins un des deux tests IDS ou $INF\gamma$), mais qu'il soit élargi aux animaux « à risque ». Ces animaux, qui correspondent aux sujets ayant été particulièrement exposés au risque de transmission (par exemple un veau allaité par une vache « positive », des sujets en contact permanent et étroit avec des animaux « positifs », etc.), doivent être identifiés par l'enquête épidémiologique conduite dans l'élevage. L'enquête épidémiologique est donc essentielle dans le processus d'assainissement.

En effet, cette enquête épidémiologique doit permettre non seulement d'identifier au sein du troupeau les animaux à risque, mais également d'identifier la ou les causes de l'infection du troupeau (amont) et d'identifier les troupeaux en lien épidémiologique, c'est-à-dire susceptibles d'être infectés ou contaminés (aval). Ces derniers troupeaux doivent faire l'objet d'un suivi particulier comme le prévoit d'ailleurs la réglementation.

- Commentaires sur le protocole de requalification

*Le protocole de requalification n'appelle pas de commentaire particulier ; il répond aux exigences réglementaires européennes. Cependant, la rédaction du texte actuel est peu claire sur ce plan. Il paraît important de rappeler que le premier contrôle de qualification doit être différent du contrôle d'assainissement, c'est-à-dire qu'il est nécessaire d'obtenir au total **trois** contrôles entièrement négatifs (les deux premiers étant espacés de deux mois et le dernier de six mois minimum) avant de rétablir une qualification permettant les échanges et mouvements d'animaux.*

Alors que les contrôles d'assainissement sont réalisés grâce au couplage de tests IDS aux tests $INF\gamma$, le CES SA considère comme nécessaire et suffisant d'effectuer les contrôles de requalification avec les seuls tests IDS.

- Estimation du niveau de risque associé à la mise en place du protocole pour le suivi d'un troupeau abattu partiellement en vue de sa requalification.

La pratique de l'abattage de la totalité des bovins d'un cheptel reconnu tuberculeux demeure, en situation de fin d'éradication de la maladie, la solution recommandée en vue de prévenir tout risque de diffusion et de résurgence de l'infection, pour autant cependant que les troupeaux infectés soient détectés précocement et que leur élimination soit décidée rapidement.

Cette solution a cependant montré des limites en raison à la fois de la valeur prédictive positive insuffisante des tests de dépistage employés jusque là, retardant de ce fait la décision d'abattage, soumise au délai de confirmation de l'infection par la mise en évidence du bacille tuberculeux, et des difficultés d'ordre génétique et économique exprimées par les éleveurs pour envisager l'abattage total de leur troupeau. Ces limites sont sans doute en partie à l'origine de l'évolution défavorable de la situation dans les départements de la Dordogne et de la Côte-d'Or et expliquent la faible motivation à déclarer certaines réactions douteuses ou positives.

La pratique de l'abattage partiel a été la règle durant de nombreuses années et a permis d'assainir une grande partie des troupeaux reconnus tuberculeux. Dans le contexte épidémiologique français, l'apport des tests IFN γ et PCR, assorti d'une certaine rigueur dans le choix des sujets à éliminer dans le cadre de l'abattage diagnostique, peut permettre, dans des délais relativement courts, de déterminer le taux d'infection du cheptel et de décider, en fonction des risques de diffusion, si l'abattage partiel est envisageable ou non.

Dans ce contexte, l'application rigoureuse d'un protocole d'assainissement tel que rédigé par le groupe de travail de la DGAI et assorti des mesures complémentaires proposées par le CES SA :

- (i) réalisation d'une enquête épidémiologique permettant de n'inclure dans ce protocole que les élevages ne présentant pas de risque important de diffusion de l'infection dans la zone ;*
- (ii) identification et abattage diagnostique des animaux à risque ;*
- (iii) interruption du protocole d'abattage partiel dès qu'on atteint le seuil de 5 % (cumulé) des animaux du troupeau réagissant à l'un au moins des tests pratiqués ;*
- (iv) protocole de requalification reposant sur **trois** contrôles à résultats entièrement négatifs (les deux premiers étant espacés de deux mois et le dernier de six mois minimum avant de rétablir une qualification permettant les échanges et mouvements d'animaux),*

*ne semble pas de nature à augmenter le risque de diffusion de la tuberculose par rapport à la situation actuelle, sachant que toute découverte de nouveaux animaux tuberculeux (isolement d'une souche de *M. bovis* ou réaction PCR positive associée à une histologie positive) au cours de ces contrôles devrait entraîner une décision d'abattage total immédiat.*

Conclusion et recommandations

Considérant la situation épidémiologique actuelle du territoire français vis-à-vis de la tuberculose bovine et surtout l'existence de foyers rémanents dans certains départements (Dordogne et Côte d'Or en particulier), le CES SA réaffirme 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.

Le CES SA admet, néanmoins, 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, est de nature à améliorer le suivi des cheptels durant la phase d'assainissement.

Le CES SA souligne toutefois :

- l'importance à attacher à la réalisation de l'enquête épidémiologique qui doit permettre de définir, au départ, si le risque de diffusion de l'infection tuberculeuse peut être maintenu à un niveau suffisamment faible pour rendre acceptable la décision de recours à l'abattage partiel, qui doit également rendre possible*

l'identification des animaux à risque, les causes probables de l'infection et enfin l'identification des élevages en lien épidémiologique ;

- *la nécessité d'inclure parmi les animaux faisant l'objet de l'abattage diagnostique, non seulement les animaux réagissant à la fois aux tests tuberculiques et $INF\gamma$, mais aussi l'ensemble des animaux à risque, soulignant l'importance cruciale de l'enquête épidémiologique destinée à les identifier ;*
- *la nécessité de tenir compte de la proportion d'animaux trouvés réagissants (c'est-à-dire à réponse positive à l'un au moins des deux tests IDS ou $INF\gamma$) lors des contrôles réalisés pendant la période d'assainissement, un seuil de 5 % (cumulé) maximum devant entraîner la décision d'interrompre ce processus d'abattage partiel au profit d'un abattage total ;*
- *la nécessité d'interrompre immédiatement le processus d'abattage partiel dès lors que la découverte du bacille tuberculeux chez d'autres animaux permet de montrer l'existence d'un processus d'infection tuberculeuse évolutive au sein du cheptel, donc un risque accru de diffusion ;*
- *la nécessité d'associer systématiquement tuberculinations et tests $INF\gamma$ sur l'ensemble des bovins de plus de six semaines présents dans le cheptel pendant la phase dite d'assainissement ;*
- *la nécessité d'obtenir au total **trois** contrôles à résultats entièrement négatifs (les deux premiers étant espacés de deux mois et le dernier de six mois minimum) avant de rétablir une qualification permettant les mouvements d'animaux ;*
- *enfin 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' $INF\gamma$ dans le protocole d'assainissement afin que des enseignements puissent être tirés et des ajustements effectués, le cas échéant.*

De telles dispositions étant jugées de nature à limiter le risque de diffusion de la tuberculose bovine tout en évitant d'éliminer la totalité des animaux, le CES SA émet un avis favorable à la mise en place de manière expérimentale du protocole d'abattage partiel proposé.

Principales références bibliographiques

Coad M., Downs S.H., Durr P.A., Clifton-Hadley R.S., Hewinson R.G., Vordermeier H.M., Whelan A.O. Blood-based assays to detect Mycobacterium bovis-infected cattle missed by tuberculin skin testing. Vet Rec. 2008, 162(12), 382-384.

De la Rua-Domenech R., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. Res. Vet. Sci., 2006, 81, 190-210.

Francis J., Seiler R.J., Wilkie W.I., O'Boyle D., Lumsden M.J., Frost A.J. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. Vet. Rec., 1978, 103, 420-435.

Houlihan M.G., Dixon F.W., Page N.A. Outbreak of bovine tuberculosis featuring anergy to the skin test, udder lesions and milkborne disease in young calves. Vet. Rec., 2008, 163, 357-361.

Monaghan M.L., Doherty M.L., Collins J.D., Kazda J.F., Quinn P.J. The tuberculin test. Vet. Microbiol., 1994, 40, 111-124.

Office international des Epizooties. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE, Chapitre 2.3.3. Tuberculose bovine. Adresse URL :

http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/Chapitre%20final05%202.3.3_Tuberculosebov.pdf (accédé le 6 octobre 2008).

Pollock J.M., Neill S.D. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. *Vet. J.*, 2002, 163(2), 115-127.

Pollock J.M., Welsh M.D., McNair J. Immune responses in bovine tuberculosis: Towards new strategies for the diagnosis and control of disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, 108, 37-43.

Ritacco V., López B., De Kantor I.N., Barrera L., Errico F., Nader A. Reciprocal cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. *Res. Vet. Sci.*, 1991, 50(3), 365-367.

Saegerman C., Delville J., De Waele L., Gilson D. Serological and cutaneous testing of bovine tuberculosis with the A60 antigen complex from *Mycobacterium bovis*, strain Calmette-Guérin. *Prev. Vet. Med.*, 1995, 23, 239-248.

Sreedevi B., Krishnappa G. Standardization of polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms from bovines. *Indian J. Anim. Sci.*, 2004, 74(11), 1120-1123.

Vitale F., Capra G., Maxia L., Reale S., Vesco G., Caracappa S. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in cattle by PCR using milk, lymph node aspirates, and nasal swabs. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, 36(4), 1050-1055.

Vordermeier M., Goodchild A., Clifton-Hadley R., de la Rua R. The interferon-gamma field trial: background, principles and progress. *Vet. Rec.*, 2004, 155(2), 37-38.

Welsh M.D., Cunningham R.T., Corbett D.M., Girvin R.M., McNair J., Skuce R.A., Bryson D.G., Pollock J.M. Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. *Immunol.*, 2005, 114(1), 101-111.

Wood P.R., Corner L.A., Rothel J.S., Baldock C., Jones S.L., Cousins D.B., McCornick B.S., Francis B.R., Creeper J., Tweddle N.E. Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust. Vet. J.*, 1991, 68(9), 286-290.

Mots clés : tuberculose, protocole, abattage partiel, requalification »

Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction générale de l'alimentation concernant l'abattage partiel des troupeaux bovins reconnus infectés de tuberculose.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND