

Epidémiosurveillance de la maladie d'Aujeszky à l'aide de fragments de muscle prélevés à l'abattoir

*Karin DE LANGE (1), Nadia HADDAD (2), Marie-Frédérique LE POTIER (3),
Vincent AUVIGNE (4), Xavier PACHOLEK (5), Philippe AMAR (1) et Bernard TOMA (2)*

*(1) Union des Groupements de Producteurs de Viande de Bretagne,
104 rue Eugène Pottier, CS 26553, 35065 Rennes*

*(2) Laboratoire OIE de référence de la maladie d'Aujeszky,
Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 94704 Maisons-Alfort cedex*

*(3) AFSSA Ploufragan, Unité de Virologie et d'immunologie porcines,
Zoopôle Les Croix, BP 53, 55440 Ploufragan*

(4) Ekipaj, 4 allée Charles Gounod, 35760 Saint Grégoire

(5) DGAL, 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris cedex 15

Epidémiosurveillance de la maladie d'Aujeszky à l'aide de fragments de muscle prélevés à l'abattoir

La situation épidémiologique de la maladie d'Aujeszky en France s'est fortement améliorée au cours des 15 dernières années, grâce aux mesures de lutte appliquées.

L'épidémiosurveillance de cette maladie va devoir s'adapter à cette évolution et passer du stade du dépistage systématique à celui du sondage. L'analyse de l'exsudat de fragments de muscle prélevés à l'abattoir constituerait a priori une réponse économique complémentaire d'une recherche d'anticorps dans le sérum d'animaux de porcheries jugées à risque.

Dans un premier temps l'évaluation de la sensibilité et de la spécificité de tests ELISA gE sur des échantillons d'exsudat musculaire de porc a été réalisée. Les résultats obtenus sont très encourageants : une étude initiale portant sur 389 échantillons a révélé une sensibilité de 93,2% ; une étude ultérieure visant à déterminer la spécificité à grande échelle sur trois coffrets du commerce a estimé la spécificité à un minimum de 99,5%. En outre, le Danemark a montré la faisabilité des prélèvements de muscle en abattoir.

Dans un deuxième temps, une comparaison par simulation des performances comparées du modèle de dépistage sur extraits de muscle en abattoir (M/A) et du modèle de dépistage sur sérum en élevage (S/E) a été réalisée. Différents protocoles ont été testés, en situation de forte ou faible prévalence. Les résultats conduisent à privilégier des plans de contrôle fractionnés, notamment dans le cadre d'un protocole M/A. Un transfert partiel des prélèvements de l'élevage vers l'abattoir pourrait ainsi être envisageable à terme, après concertation entre les professionnels et les services vétérinaires.

Epidemiological surveillance of pseudorabies using meat samples collected at the slaughterhouse

The epidemiological situation of pseudorabies (Aujeszky's disease) in France has greatly improved over the past fifteen years, thanks to the disease control programmes in place.

The epidemiological surveillance of this disease should therefore be adapted to this evolution and evolve from systematic screening to spot check testing. The analysis of meat juice from samples collected in the slaughterhouse offers a low-cost complementary solution to the detection of antibodies in the serum of animals from holdings considered at risk.

In the first part of the article, the specificity and sensitivity of ELISA gE tests are evaluated for meat juice samples. Encouraging results have been obtained. In an initial study with 389 samples, an individual sensitivity of 93.2% was observed. In a second study, involving 1879 samples and three commercial test kits, the minimal level of specificity was found to be 99.5%. In addition, the feasibility of muscles sampling has been demonstrated in Denmark.

In the second part, a simulation study is carried out. Two screening models are compared: Screening at the slaughterhouse using meat juice samples (M/S) versus screening of serum samples collected on-farm (S/F), both in situations of high and low disease prevalence. The results show clear advantages of fractionated screening programmes, especially those involving a M/S protocol. This suggests that a possible partial transfer of current on-farm sampling to carcass sampling at the slaughterhouse merits consideration, after consultation between the pig industry and the veterinary services.

INTRODUCTION

Le plan de prophylaxie de la maladie d'Aujeszky actuellement mis en œuvre en France est fondé sur un dépistage de l'infection par analyse d'échantillons de sang prélevés sur des animaux en élevage, associé, dans les zones non indemnes, à une vaccination à l'aide de vaccins délévés vis-à-vis de la glycoprotéine d'enveloppe gE.

Une méthode récente de dépistage sérologique réalisée à partir d'échantillons de muscles prélevés en abattoir permet d'envisager une évolution de la mise en œuvre de cette prophylaxie. Cette méthode consiste à analyser le suc musculaire obtenu après congélation-décongélation de fragments de muscle. Elle a été décrite pour le dépistage, chez le porc, de la salmonellose (NIELSEN et al., 1998), du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (MORTENSEN et al., 2001), ainsi que de la maladie d'Aujeszky (LE POTIER et al., 1998 ; RODAK et al., 2000). Elle est actuellement utilisée à grande échelle pour le dépistage de la salmonellose porcine au Danemark où plusieurs centaines de milliers d'analyses sont réalisées chaque année.

A priori, les atouts et les difficultés des méthodes fondées sur des prélèvements de muscle en abattoir (M/A), ou de sang en élevage (S/E) sont précisés dans le tableau 1.

L'éventualité du recours, en France, à un dépistage de la maladie d'Aujeszky en abattoir nécessite d'approfondir cette comparaison en répondant notamment aux questions suivantes :

- Quelles sont les performances des coffrets ELISA-gE (voire, gB) appliqués à l'exsudat musculaire pour la détection de l'infection par le virus de la maladie d'Aujeszky ?
- Quelle est la faisabilité de la mise en place des prélèvements à grande échelle à l'abattoir ?
- Pour le dépistage, quelles sont les performances potentielles de la méthode M/A comparées à celles de la méthode S/E ?
- A quelles exigences nationales ou internationales le programme national d'épidémiosurveillance de la maladie d'Aujeszky doit-il répondre, en particulier en termes de niveau de prévalence inter et intra-troupeaux, pour qualifier ou maintenir la qualification d'une zone indemne ?
- Quel est le rapport coût/performances des deux méthodes ?

Cet article a pour objectif de faire le point des réponses qui peuvent être apportées à certaines de ces questions conditionnant la perspective d'évolution des modalités de l'épidémiosurveillance de la maladie d'Aujeszky en France, sans perdre de vue que la mise en place d'un tel système pourrait être exploitée pour l'épidémiosurveillance d'autres maladies porcines.

1. DÉTERMINATION DES PERFORMANCES DES COFFRETS ELISA-gE

Deux études [LE POTIER et al., 1998 ; DE LANGE et al., 2002] ont permis de préciser les performances des coffrets ELISA-gE qui seraient utilisés sur suc musculaire dans un programme de contrôle de type M/A.

La première étude [LE POTIER et al., 1998] a porté sur les coffrets d'un seul producteur (L.S.I.).

Une analyse comparative de trois cent quatre vingt neuf couples (sérum/suc musculaire) a été réalisée. En prenant le sérum comme référence, la sensibilité individuelle du test était de 93,2 % et la spécificité individuelle de 98,3 %. La concentration en anticorps dans les extraits musculaires était en moyenne vingt fois inférieure à celle des sérums et peut expliquer un léger manque de sensibilité en diagnostic individuel.

La deuxième étude [DE LANGE et al., 2002] a porté sur les coffrets ELISA-gE commercialisés en France par trois producteurs (LSI, Pourquier et Intervet), incluant le coffret de la première étude.

Elle avait pour objectifs :

- de déterminer la spécificité des coffrets sur une plus grande échelle que la première étude. En effet, la bonne spécificité du test de dépistage en région faiblement infectée ou indemne (situation française actuelle) conditionnera son emploi en minimisant les erreurs par excès ;
- de vérifier que les résultats négatifs obtenus sur des animaux indemnes n'étaient pas dus à une insuffisance de sensibilité des coffrets appliqués aux sucs musculaires. A cette fin, des prélèvements provenant de 45 porcs reproducteurs issus d'élevages infectés et ayant antérieurement fourni une réponse sérologique positive ont été analysés en aveugle par les deux laboratoires d'analyses.

Deux mille vingt cinq prélèvements de muscle ont été réalisés en abattoir sur des carcasses de porcs provenant d'élevages

Tableau 1 - Comparaison des méthodes M/A et S/E pour le dépistage de la maladie d'Aujeszky

	M/A	S/E
Atouts	- Dépistage possible tout au long de l'année. - Modalités de prélèvement rapides.	- Visite régulière du vétérinaire sanitaire en élevage.
Difficultés	- Ne touche pas les élevages post-sevreurs. - Dépistage moins efficace dans les petits élevages (peu d'animaux à l'abattoir). - Performances, logistique, coûts à préciser.	- Ne touche pas les élevages engraisseurs purs. - Contention difficile des porcs. - Coût de la visite sanitaire (pris en charge par l'Etat).

considérés comme indemnes de la maladie d'Aujeszky. Parmi les 1 879 prélèvements analysables (volume de suc supérieur ou égal à 220 µl), 1 865 (99,3 %) ont donné un résultat d'emblée négatif avec les trois coffrets. Sur les 14 échantillons ayant fourni un résultat positif ou douteux lors de la première analyse, tous sauf un ne donnaient ce résultat qu'avec un seul coffret. Neuf de ces échantillons ont pu être retestés (avec le même coffret que celui utilisé en première analyse) et ont fourni un résultat négatif lors de la seconde analyse.

Sur les 45 porcs à sérologie positive pour les anticorps gE, 32 (71 %) ont fourni une réponse positive avec les trois coffrets utilisés sur les exsudats musculaires, quatre une réponse négative avec les trois coffrets (9 %) et les autres des réponses variables selon les coffrets.

En fonction de ces résultats, la spécificité est supérieure à 99,5 % pour les trois coffrets en première analyse, et supérieure à 99,8 % en tenant compte de la deuxième analyse.

2. FAISABILITÉ DES PRÉLÈVEMENTS EN ABATTOIR

Sur ce point, le Danemark a montré qu'il était possible de fonder une prophylaxie sur la réalisation de prélèvements de muscle en abattoir. Pour leur part, les autorités sanitaires suisses ont fondé récemment leur programme de surveillance de la maladie d'Aujeszky sur un prélèvement de sang en abattoir de tous les porcs issus des élevages de plus de 25 reproducteurs.

En complément des études favorables menées sur les coffrets de diagnostic (cf. § 1), il est maintenant essentiel d'évaluer dans quelle mesure ce modèle de suivi en abattoir est épidémiologiquement, logistiquement et financièrement adaptable au contexte de production et de contrôle sanitaire français.

D'un point de vue stratégique, il est important de souligner qu'un transfert de la réalisation des prélèvements de l'élevage vers l'abattoir ne doit pas mettre en cause la présence du vétérinaire sanitaire en élevage. Cette présence concourt en effet de façon importante à l'efficacité du dispositif général d'épidémiologie et de lutte contre les épizooties telles que la fièvre aphteuse ou les pestes porcines.

3. PERFORMANCES COMPARÉES DES MODÈLES DE DÉPISTAGE M/A ET S/E

Les performances des deux modèles de dépistage M/A et S/E ont été évaluées du point de vue du maintien de qualifi-

cation indemne d'une zone, mais surtout de la vitesse de détection d'un premier foyer dans le cadre de l'épidémiologie.

En ce qui concerne la vitesse de détection d'un premier foyer, il est possible d'en calculer la probabilité en fonction du temps en l'exprimant, d'une part, à l'issue d'un temps donné, d'autre part, sous forme du temps nécessaire pour atteindre une probabilité donnée (95 %) (AUVIGNE et DE LANGE, 2002).

Quatre protocoles d'échantillonnage ont été comparés par simulation : les trois premiers, de type S/E ont été utilisés au cours de ces dernières années en France, le quatrième, de type M/A, éventuellement envisageable.

Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 2.

Ces protocoles ont été appliqués à deux modèles d'évolution de la maladie en élevage :

- Modèle d'élevage non vacciné : élevage au sein duquel l'infection entraîne une séroconversion d'une majorité de porcs (80 %) en trois semaines.
- Modèle d'élevage vacciné : élevage au sein duquel l'incidence de l'infection demeure limitée à 20 % en trois semaines.
- Les résultats des probabilités calculées de détection de l'infection sont données dans les tableaux 3 et 4. Les données encadrées sont les semaines où la probabilité de détection dépasse 50 % puis 90 %.

Les résultats montrent que, à nombre égal d'analyses et avec le même test de dépistage, les chances d'une détection précoce sont plus importantes avec un plan de contrôle fractionné (comparaison des protocoles « annuel » « quadrimestriel » et « mensuel »). Le gain de temps est de plusieurs semaines, que la prévalence de l'infection soit forte ou faible.

La comparaison des protocoles « mensuel » et « abattoir » montre que, à plan d'échantillonnage égal (5 échantillons toutes les 6 semaines), l'utilisation d'un test de dépistage moins sensible (test M/A par rapport au test S/E) n'a pas d'impact sur le délai de détection quand la prévalence est forte. En revanche, quand la prévalence est faible (situation française actuelle), la baisse de sensibilité augmente le délai nécessaire pour atteindre 90 % de chances de détection de l'infection. L'impact est de trois semaines pour une sensibilité de 80 %.

Tableau 2 - Protocoles d'échantillonnage pour la détection de l'infection d'un élevage par la maladie d'Aujeszky

Protocole	Test ELISA	Sensibilité du test (%)	Nombre d'échantillons	Intervalle en semaines
Annuel	Sérum	100	45	54
Quadrimestriel	Sérum	100	15	18
Mensuel	Sérum	100	5	6
Abattoir	Exsudat musculaire	80	5	6

Tableau 3 - Evolution de la probabilité de détection dans le temps dans un troupeau où la prévalence atteint 80 % en trois semaines

		Semaine																			
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Protocole	Annuel	0	2	4	6	7	9	11	13	15	17	19	20	22	24	26	28	30	31	33	
	Quadrimestriel	0	6	11	17	22	28	33	39	44	50	56	61	67	72	78	83	89	94	100	
	Mensuel	0	14	30	47	64	80	97	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
	Abattoir	0	13	29	45	62	79	95	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

Tableau 4 - Evolution de la probabilité de détection dans le temps dans un troupeau où la prévalence atteint 20 % en trois semaines

		Semaine																			
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Protocole	Annuel	0	0	2	4	6	7	9	11	13	15	17	19	21	22	24	26	28	29	31	
	Quadrimestriel	0	4	9	14	19	25	30	35	41	46	51	57	62	67	73	78	83	89	94	
	Mensuel	0	5	14	26	37	48	59	67	72	75	79	83	86	89	91	92	93	94	96	
	Abattoir	0	4	12	22	31	41	51	58	63	67	71	75	79	82	84	86	88	90	91	

Cependant, même avec cette baisse de sensibilité, un protocole de contrôle M/A serait plus efficace que les protocoles S/E « annuel » et « quadrimestriel » actuellement en cours.

La réalisation des prélèvements en abattoir permettrait donc une bonne surveillance de la maladie d'Aujeszky, et ce malgré la moindre sensibilité des analyses sur exsudat musculaire.

4. EPIDÉMIOLOGIE DANS LE CADRE DE L'ACQUISITION ET DU MAINTIEN DU STATUT INDEMNÉ

Pour l'application d'un nouveau modèle de prophylaxie en France, il convient de distinguer :

- la situation actuelle, avec d'une part des zones à forte production porcine comme la Bretagne et le département du Nord demeurées à prophylaxie médicale et à statut non reconnu par l'Union européenne, et d'autre part la majorité du territoire métropolitain qui est indemne et réalise une prophylaxie sanitaire (65 départements actuellement reconnus indemnes par la Commission européenne et 14 en passe de l'être) ;
- et la situation de pays indemne, espérée dans un avenir proche.

Les qualités du test de dépistage M/A décrites au paragraphe II incitent à n'envisager la mise en œuvre d'un modèle de prophylaxie de type M/A que dans le cadre du maintien d'une qualification indemne.

Sur ce plan, ni l'Office international des épizooties (OIE) ni l'Union européenne n'ont défini d'exigences précises. La norme de l'OIE pour la maladie d'Aujeszky a prévu une annexe (3.8.X) qui n'est toujours pas disponible à ce jour.

En l'absence de critères précis officiels pour les performances devant être assurées par un protocole d'épidémi-

surveillance en région indemne, nous avons retenu l'hypothèse de travail suivante pour comparer différents scénarios :

« échantillonnage donnant 99,8% de chances de détecter la maladie si le taux de prévalence de l'infection des cheptels est de 1 %, avec un taux de prévalence intra-cheptel de 5 % ».

Une simulation d'application à la Bretagne d'un protocole répondant à ces critères a été effectuée en comparant les protocoles de prélèvements sur reproducteurs en élevage et à l'abattoir. Elle a été réalisée sur la base de 5 000 cheptels avec reproducteurs. Les résultats sont les suivants :

4.1. Sondage en deux étapes en élevage

Il consiste à tirer au sort les élevages à étudier puis, dans chaque élevage, à prélever le sang du nombre adéquat d'animaux.

Ce scénario reprend les caractéristiques du dépistage annuel français : test sur sérum avec 15 prélèvements par élevage.

Avec ce protocole, il serait nécessaire d'effectuer des prélèvements dans 1 086 élevages (16 290 prises de sang) pour atteindre les performances fixées par le document de travail de l'OIE.

4.2. Sondage en deux étapes dans six abattoirs

Il consiste à définir les élevages à étudier puis à effectuer les prélèvements à l'abattoir sur des animaux issus de ces élevages.

Pour un test de dépistage de sensibilité 0,80 le nombre de prélèvements musculaires en abattoir devrait être de 17 250 (soit 6 % de plus que de prélèvements en élevage).

Un tel scénario de sondage en abattoir impose de faire trois prélèvements par élevage et nécessite donc d'avoir une

organisation logistique et un système de gestion de l'information permettant d'effectuer ce ciblage des prélèvements.

On peut également proposer ce même nombre de prélèvements (17 250) mais effectués de manière aléatoire dans les abattoirs, soit un prélèvement tous les n reproducteurs abattus.

4.3. Sondage en une étape dans six abattoirs

Il consiste à prélever des échantillons de façon aléatoire dans les abattoirs.

Pour la Bretagne, en considérant un cheptel de 668 000 reproducteurs et un taux de renouvellement moyen de 38 %, le taux de sondage à appliquer à l'abattoir serait de l'ordre de 6,8 %, soit un prélèvement à faire tous les 15 reproducteurs abattus.

Bien sûr, avec ce plan de sondage, la probabilité de détecter l'infection dans un cheptel de petite taille est faible. Cette probabilité augmente avec la taille de l'élevage. En moyenne, ce protocole de sondage correspond à effectuer un prélèvement pour 40 reproducteurs par élevage.

Les élevages de 120 truies et plus auraient, en moyenne, plus de trois animaux faisant l'objet d'un prélèvement par an. Dans ce cas, le pouvoir de détection du sondage aléatoire serait meilleur que celui du sondage ciblé en abattoir.

La question se pose également, dans un avenir plus lointain, du protocole d'échantillonnage au plan national pour la France devenue pays indemne de maladie d'Aujeszky, reconnu par l'Union européenne.

Des simulations peuvent être faites pour différents niveaux de performances et d'exigences (dans l'attente d'une définition

communautaire de ces exigences) tant pour un scénario fondé exclusivement sur des prises de sang en élevage que pour un scénario faisant appel à des prélèvements en abattoir.

Rien ne s'oppose, d'ailleurs, à utiliser un protocole mixte fondé sur des prélèvements aléatoires de muscle (modèle danois) et/ou de sang (modèle suisse) à l'abattoir et complété par des prélèvements de sang ciblés en élevage dans des exploitations qui n'envoient pas de porcs en abattoir ou qui sont jugées à risque.

Finalement, au delà des performances épidémiologiques requises pour répondre à des exigences sanitaires et réglementaires à préciser, l'évolution de la prophylaxie de la maladie d'Aujeszky nécessitera une concertation approfondie entre les professionnels et les services vétérinaires afin d'intégrer les contraintes logistiques et financières du transfert possible d'une partie des prélèvements de l'élevage vers l'abattoir (étude coût/performance nécessaire) sans préjudice de la surveillance sanitaire assurée dans les élevages par les vétérinaires sanitaires dans le cadre plus général de la lutte contre les grandes épizooties.

CONCLUSION

L'épidémiosurveillance de la maladie d'Aujeszky pourrait s'appuyer en partie sur la méthode consistant à rechercher des anticorps sur des prélèvements de muscle effectués en abattoir, en complément de prélèvements sanguins faits en élevage.

Avant d'appliquer ce protocole en zone indemne, il faudrait vérifier les performances des coffrets ELISA anticorps totaux ou gB sur exsudat musculaire. En fonction des objectifs d'épidémiosurveillance à définir, des protocoles peuvent être proposés et l'organisation logistique correspondante évaluée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUVIGNE V., DE LANGE K., 2002. Epidémio. Santé anim., 42, sous presse.
- DE LANGE K., HADDAD N., LE POTIER M.F., AGIER C., LE VÉE M., AMAR P., TOMA B., 2002. Vet. Rec., sous presse.
- LE POTIER M.F., FOURNIER A., HOUDAYER C., HUTET E., AUVIGNE V., HERY D., SANAA M. TOMA B., 1998. Vet. Rec., 143, 385-387.
- MORTENSEN S., STRANDBYGAARD B., BOTNER A., FELD N., WILLEBERG P., 2001. Vet. Res., 32 (5), 441-453.
- NIELSEN B., EKEROTH L., BAGER F., LIND P., 1998. J. Vet. Diagn. Invest., 10, 158-163.
- RODAK L. SMID B., VALICEK L., ZAJAC L., 2000. Vet. Med. Czech., 45(1), 13-18.

