

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE : LES QUESTIONS ET LES CONDITIONS POUR L'INTERPRETATION DES REponses RELATIVES AUX ISOLATS*

*B. Toma*¹, *J.J. Bénet*¹, *Barbara Dufour*²
et *Nadia Haddad*¹

RESUME : L'utilisation des outils de biologie moléculaire pour l'étude des isolats (bactéries, virus, champignons, parasites, etc.) est en cours de banalisation.

L'emploi des résultats obtenus, à des fins épidémiologiques, exige le respect d'un certain nombre de précautions, en particulier lorsque des isolats sont jugés non distinguables.

Le texte ci-dessous, d'introduction à la Journée sur le thème de l'épidémiologie moléculaire et aux conférences suivantes, soulève différentes questions et attire l'attention sur les conditions générales nécessaires pour l'interprétation à des fins épidémiologiques des résultats de l'étude d'isolats.

SUMMARY : Molecular biology tools are now routinely used to identify various microorganisms (bacteria, virus, fungus, parasite...).

Results to be used for epidemiological purposes should carefully follow some good practices especially when microorganisms are not distinguishable.

This paper, introducing the thematic meeting on molecular epidemiology and the following conferences, draws our attention on necessary general conditions to monitor results during epidemiological studies targeting several microorganisms.



Pour de nombreux agents pathogènes (*bactéries, virus, parasites, etc.*), il est possible d'obtenir des « isolats » (*c'est-à-dire le produit d'une technique d'isolement utilisée au laboratoire*) à partir d'un sujet (*homme, animal, sain, malade*) ou d'un objet (*aliment, milieu environnant, etc.*).

Depuis des décennies, de tels isolats peuvent être étudiés au laboratoire. Au fil du temps, les techniques d'étude se sont multipliées, diversifiées et progressivement affinées au point de descendre au niveau moléculaire. Le pouvoir de « discrimination » des techniques disponibles pour l'étude des isolats a augmenté.

A l'heure actuelle, coexistent deux types de techniques : d'une part, celles qui font appel au « phénotype » et reposent donc sur des propriétés de culture, de métabolisme, de pouvoir antigène, de sensibilité aux phages, aux antibiotiques, etc. ; d'autre part, celles qui s'adressent au génome et qui sont des techniques dites de biologie moléculaire. L'usage croissant de ces dernières a conduit à l'utilisation de l'expression « Epidémiologie moléculaire », ellipse d'une expression plus rationnelle du type « Utilisation en épidémiologie de résultats obtenus à l'aide de techniques de biologie moléculaire ».

* Texte de l'exposé présenté lors de la Journée AEEMA, 17 mai 2001

¹ ENVA – UPMC, 94704 Maisons-Alfort cedex, France

² AFSSA – DERNS, 23 avenue du Général de Gaulle, BP 19, 94701 Maisons-Alfort cedex, France

Il est devenu difficile pour un non spécialiste de biologie moléculaire de se repérer dans le dédale des techniques actuellement disponibles et d'utiliser de façon pertinente, à des fins épidémiologiques, les résultats obtenus au laboratoire. D'autant que chaque cas (*une technique donnée pour un agent pathogène donné*) a ses particularités qu'il faut connaître avant de tirer des conclusions.

Il est difficile (voire impossible) de demander à un épidémiologiste de connaître en détail les caractéristiques de chaque technique et les limites conditionnant l'interprétation des résultats correspondants. Il est tout aussi difficile de demander à un spécialiste de biologie moléculaire d'avoir une large culture épidémiologique.

La solution réside probablement dans le dialogue et la concertation systématiques entre ces deux catégories de personnes, dès le protocole d'échantillonnage, puis lors de l'exploitation à des fins épidémiologiques de résultats d'étude d'isolats en laboratoire. Les lignes qui suivent ont pour objectif, après avoir rappelé quelques notions générales, de préciser :

- les types de questions auxquelles un épidémiologiste peut souhaiter répondre grâce à l'étude d'isolats au laboratoire ;
- les facteurs conditionnant l'utilisation en épidémiologie des réponses apportées par le laboratoire, les limites de ces réponses et les précautions à respecter.

I - NOTIONS GENERALES

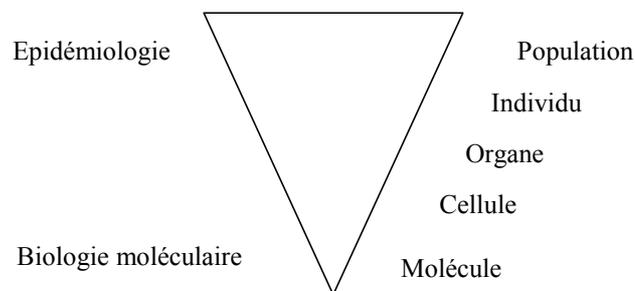
A priori, l'épidémiologie, d'une part, et la biologie moléculaire, d'autre part, sont deux domaines situés aux antipodes des sciences du vivant.

Comme l'indique la figure 1, l'ensemble du vivant peut être l'objet d'études à des échelles très différentes, allant du plus petit (la molécule) au plus grand (des

populations d'individus), en passant par différents autres niveaux (figure 1). L'expression « Epidémiologie moléculaire » est donc remarquable en ce qu'elle associe les deux échelles extrêmes du monde du vivant.

FIGURE 1

Niveaux d'étude du vivant et places de l'épidémiologie et de la biologie moléculaire au sein de ces niveaux



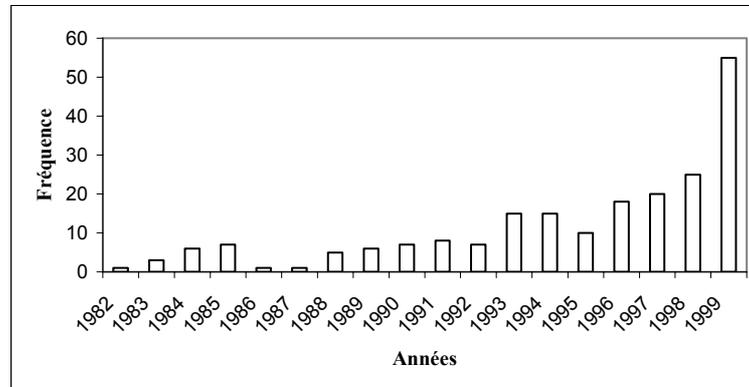
On peut être assuré que l'utilisation des techniques de biologie moléculaire en épidémiologie est promise à un développement important (de la même façon que l'on peut être sûr que les domaines du diagnostic et du dépistage sont en train de connaître une véritable révolution avec remplacement progressif de techniques classiques demandant un temps parfois long, par des techniques de biologie moléculaire apportant une réponse en des délais stupéfiants de brièveté). Durr *et al.* ont rappelé récemment [2000] que le terme « Epidémiologie moléculaire » avait été utilisé pour la première fois en 1973 et ils ont fourni les résultats de leur recherche de ce concept dans la bibliographie. La

figure 2 indique leurs résultats et montre l'accroissement de l'utilisation de ce concept. On peut être certain que cette tendance va se poursuivre et s'accroître. Ces auteurs signalent par ailleurs que pour l'instant, ce qui apparaît sous le vocable d'« épidémiologie moléculaire » est en général moléculaire mais rarement épidémiologique !

D'où l'importance d'une étroite collaboration entre spécialistes de biologie moléculaire et épidémiologistes pour le développement d'une véritable épidémiologie moléculaire, et de la mise en commun des questions et des précautions pour l'interprétation des résultats.

FIGURE 2

Nombre annuel de publications scientifiques citées dans VETCD et incluant dans le titre, le résumé ou les mots-clés le terme « épidémiologie moléculaire »
[Durr *et al.*, 2000]



II - LES QUESTIONS

Globalement, en présence d'isolats, les questions posées peuvent appartenir à l'une ou l'autre de deux grandes catégories.

➤ **Première catégorie** : il s'agit de comparer deux (ou plusieurs) isolats, en vue d'émettre, de réfuter ou de conforter une hypothèse de **lien épidémiologique** entre les sujets et/ou objets d'origine (cf. encadré : notion de lien épidémiologique).

Exemples :

isolats d'une même espèce pathogène chez un animal familier et son propriétaire atteint d'une zoonose ;

isolats de Listeria monocytogenes à partir de différentes personnes et d'un même aliment.

Les questions rencontrées lors de l'étude de telles hypothèses de liens épidémiologiques, en amont et en aval, sont essentiellement :

- Quelles sont les conditions pour affirmer que deux isolats **sont différents** ?

Quel est le degré de « changement » d'un clone au sein d'un sujet (variabilité intra-sujet) ou d'un sujet à un autre (variabilité inter-sujets) ?

Quel est le degré de répétabilité et de reproductibilité de(s) la technique(s) utilisée(s) ?

Cette « différence » permet-elle d'exclure l'hypothèse de l'existence d'un lien épidémiologique entre les sujets et/ou objets d'origine ?

- Peut-on affirmer que deux isolats **sont identiques** ?

Si oui, dans quelles conditions et sous quelles réserves ?

Si oui, quels types de conclusion de lien épidémiologique peut-on tirer entre les objets et sujets à l'origine des isolats considérés comme identiques ?

Quelle est la « fiabilité » de ces conclusions ?

- **Deuxième catégorie** : il s'agit de caractériser le nouvel isolat afin de le situer au sein des isolats de la même espèce pathogène. En effet, pour beaucoup d'espèces d'agents pathogènes, les centres de référence disposent à l'heure actuelle de banques de données où sont conservées les caractéristiques d'isolats de provenances très diverses.

- Pour de nombreux agents pathogènes, on dispose de « *marqueurs de distribution spatiale* ». Ainsi pour le virus rabique, des techniques de biologie moléculaire permettent de caractériser l'origine géographique des isolats. Ceci permet de déterminer l'origine géographique vraisemblable d'un isolat donné : pour le cas de rage identifié sur un chien errant du département du Gard en 1998, il a été possible au centre de référence de l'Institut Pasteur de Paris de conclure que les caractéristiques de cet isolat étaient semblables à celles d'isolats habituellement rencontrés en Egypte.

ENCADRE

Notion de lien épidémiologique

- On peut considérer **qu'il existe un lien épidémiologique** entre deux (ou davantage) sujets ou objets dès lors que l'on établit l'existence d'un **contact direct ou indirect** entre ces sujets ou objets.

Exemples :

- deux personnes vivant dans le même foyer ;
- deux personnes se rencontrant sur leur lieu de travail ou sur un lieu de loisir ;
- une personne et son animal (de compagnie ou de rente) ;
- un aliment donné (marque, lot...) et son consommateur ;
- deux élevages entre lesquels des animaux ont circulé.

Le concept de lien épidémiologique repose donc sur des notions épidémiologiques de contact direct (présence au même endroit, au même moment des sujets ou objets) ou indirect (existence d'un objet ou d'un sujet non réceptif jouant le rôle d'« intermédiaire » entre les sujets ou objets considérés).

- **Un lien épidémiologique n'implique pas forcément l'apparition de la maladie**, voire la transmission de l'infection ou de l'infestation.

Autrement dit, un lien épidémiologique n'implique (n'exige pas) pas la transmission de l'agent pathogène.

Exemple :

- un lien épidémiologique peut être démontré (vente d'animaux) entre un foyer de maladie transmissible et 10 exploitations pendant une période donnée, et la maladie (ou l'infection ou l'infestation) peut ne survenir que dans quatre de ces dix exploitations.

- **La transmission d'un agent pathogène peut s'effectuer entre des sujets et objets même si l'on n'a pas pu démontrer l'existence d'un lien épidémiologique entre eux.**

Ceci peut résulter d'une lacune (volontaire ou involontaire) dans les informations disponibles, récoltées en vue de l'établissement d'un éventuel lien épidémiologique.

Exemples :

- oubli de signaler la consommation de tel aliment par un malade ;
- dissimulation de l'introduction d'un animal dans un troupeau.

- **L'existence d'un lien épidémiologique entre des sujets et/ou objets n'implique pas forcément le « sens » du lien.**

- ◆ Certes, dans de nombreux cas le « sens » du lien peut être déduit avec une très forte probabilité grâce aux données récoltées :

Exemples :

- le sens du lien entre un consommateur de fromage ou de rillettes correspondant à un lot contaminé par des *Listeria*, atteint de listériose (isolats non distinguables), et l'aliment est univoque ;
- il en est de même pour un élevage infecté depuis plusieurs années de tuberculose ou de brucellose et dont un animal a été introduit de manière illégale, ou accidentelle, dans un élevage antérieurement indemne (isolats non distinguables) ;
- le doute n'existe pas non plus sur le « sens » du lien épidémiologique pour un chien de chasse qui meurt de maladie d'Aujeszky cinq jours après avoir participé à une battue au sanglier (sans avoir eu le moindre contact avec des porcs, ni consommé de la viande ou des viscères de porc).

- ◆ Mais dans certains cas, le sens est incertain :

Exemples :

- le propriétaire d'un bar, son chien et plusieurs de ses clients sont atteints de tuberculose révélée à quelques mois d'intervalle (isolats non distinguables) : la chronologie d'identification des différents cas ne permet pas d'établir avec certitude la chronologie des contaminations ;

- cas de tuberculose identifiés sur des bovins et sur des blaireaux de la même exploitation (isolats non distinguables) : de la même façon, le « sens » des contaminations peut demeurer incertain.

- **L'existence d'un lien épidémiologique peut être confortée ou exclue** dans la responsabilité de l'apparition d'un cas ou d'un foyer, **en fonction des résultats de l'étude des isolats.**

Exemples :

- pour conforter : isolats non distinguables pour la listériose (cf. ci-dessus) ou isolat du type de ceux provenant des sangliers et différent de ceux provenant du porc domestique (cf. ci-dessus) ;
- pour exclure : isolats différents de *Mycobacterium bovis* à partir de bovins provenant d'exploitations pour lesquelles un lien épidémiologique a été établi.

- **L'étude des résultats d'analyse d'isolats au laboratoire peut conduire à des hypothèses de lien épidémiologique**, à vérifier grâce à la récolte de données d'ordre épidémiologique.

Attention : l'étude des isolats n'établit pas l'existence de lien épidémiologique. Elle ne peut conduire, en fonction de l'existence d'isolats non distinguables, qu'à l'hypothèse d'un lien épidémiologique entre ces isolats non distinguables, surtout si la diversité des isolats est grande.

Exemple [Narbonne *et al.*, 2000] :

- sur 39 souches de *M. tuberculosis*, trois avaient un profil semblable. Ceci a conduit à une hypothèse de lien épidémiologique. L'enquête épidémiologique a confirmé cette hypothèse de lien puisque les patients à l'origine de ces trois isolats étaient deux clients et le propriétaire d'un même bar.

- On dispose également, parfois de « *marqueurs temporels* » moléculaires ou non. En effet, les caractéristiques des isolats peuvent changer au cours du temps et un isolat peut alors être situé au cours de cette évolution. Parmi les exemples que l'on peut citer, il y a celui des isolats du virus grippal humain (exemple déjà ancien et hors biologie moléculaire) dont les caractéristiques de la neuraminidase et de l'hémagglutinine ont évolué au cours du temps :

à partir de 1918, il s'agissait de souches H₁N₁

à partir de 1957, de souches H₂N₂

et à partir de 1968, de souches H₃N₂

- Un autre type de marqueur peut correspondre à des « *marqueurs d'espèce zoologique* ». Ceux-ci permettent d'identifier l'espèce animale à l'origine de la contamination du cas ayant fourni l'isolat.

Ainsi, dans un pays où coexistent rage vulpine et rage canine, l'étude d'un isolat en provenance d'un chien permet de conclure à une contamination d'origine vulpine ou canine.

De même, l'étude d'un isolat de virus de la maladie d'Aujeszky provenant d'un chien permet de confirmer l'origine porcine ou sauvage (sanglier) de sa contamination.

- A partir de collections d'isolats dans des centres de référence peuvent être établis des dendrogrammes¹

reposant sur le degré de parenté entre les différents isolats. Comment et en quoi ces dendrogrammes peuvent-ils être utilisés à des fins épidémiologiques ?

Les questions sont donc nombreuses et portent en fait sur différents domaines.

Une première série d'interrogations porte sur la structure génomique et son fonctionnement. Des connaissances de base dans ce domaine sont indispensables pour permettre de comprendre le principe des principales méthodes de biologie moléculaire. L'exposé et le texte de J. Cl. Manuguerra dans ce numéro sont destinés à fournir l'essentiel des éléments de réponse à ces questions.

Une deuxième série de questions porte sur la nature des techniques utilisées, leur principe et la fiabilité des réponses obtenues. L'exposé et le texte de H. J. Boulouis dans ce numéro ont pour objectif d'apporter les principales informations dans ce secteur.

Une troisième série de questions porte sur l'interprétation de résultats obtenus, avec des exemples d'isolats non distinguables et d'isolats différents. Les exposés et textes suivants (dans ce numéro) sont destinés à illustrer à l'aide d'exemples les précautions à respecter, les hypothèses à émettre et les conclusions à tirer avec, parfois, leur part de probabilité et d'incertitude.

Dans une dernière partie, nous évoquerons, de façon générale, les précautions à respecter pour l'interprétation à des fins épidémiologiques, des résultats obtenus lors de l'étude d'isolats.

¹ Diagramme classant des individus selon un système de segments de droites (à l'image des branches d'un arbre) en fonction d'une proximité statistique.

III – CONDITIONS POUR L'INTERPRETATION DES REPONSES

L'interprétation des réponses de l'étude d'isolats par des laboratoires passe par le triple préalable de connaissance et d'analyse des données portant sur :

- le(s) marqueur(s) étudié(s) et leurs changements ;
- la/les technique(s) d'analyse utilisée(s) ;
- les précautions nécessaires.

Les deux premiers conditionnent en effet la fiabilité de la conclusion : « isolats différents » ou « isolats non distinguables ».

Le troisième permet de passer en revue les différentes hypothèses de liens épidémiologiques relatifs à des isolats non distinguables.

1. CARACTERISTIQUES DU MARQUEUR ETUDIE

La stabilité du marqueur étudié est tributaire :

- de la stabilité de l'expression du caractère, dans le cas de l'étude du phénotype ;

Exemple : expression irrégulière *in vitro* des antigènes K99 chez certains *E. coli* entéropathogènes du veau, du fait de l'expression irrégulière des pili porteurs de ces antigènes ;

- de la stabilité de la zone correspondante du génome, en particulier lors de l'étude du génotype.

La stabilité du génome est très variable d'un agent pathogène à l'autre.

Certains agents pathogènes ont un génome doté d'une **grande instabilité**, conduisant à d'importantes variations, au point que l'on utilise l'expression de « quasi espèces » pour distinguer des variants d'une même entité pathogène: il s'agit de divers virus à ARN comme ceux de la fièvre aphteuse, de l'artérite équine, de la grippe et de divers rétrovirus.

Au sein d'un même agent pathogène, la **stabilité** peut être **très différente d'une région à l'autre du génome**. En règle générale, les gènes codant pour des antigènes internes sont plus stables que les gènes codant pour des glycoprotéines externes. Ainsi, par exemple, pour le virus de l'anémie infectieuse des Equidés, l'antigène p26 utilisé pour le dépistage et le diagnostic sérologiques de cette maladie (test de Coggin) semble correspondre à une région très stable du génome puisque l'on ne connaît pas de différence de cet antigène d'un pays à un autre ni, pour une même souche, au cours du temps. En revanche, les régions codant pour les antigènes gp45 et gp90 font preuve d'une remarquable instabilité puisque ces antigènes subissent des variations à court terme chez une même souche : les isolats obtenus chez un même cheval, au cours des crises successives, diffèrent par leurs antigènes gp45 et gp90.

Enfin, certains agents pathogènes ont un **génomme très stable** [Singer *et al.*, 2000]. La comparaison de la stabilité génétique d'agents pathogènes atteignant une même espèce animale révèle bien ces différences : Goldberg *et al.* [2000] ont ainsi montré que la variabilité du gène codant pour la protéine ORF5 du virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) était sept fois plus importante que celle du gène codant pour la glycoprotéine gC du virus de la maladie d'Aujeszky.

Aucune conclusion quant à l'hypothèse de lien (ou d'absence de lien) épidémiologique ne peut donc être tirée, en l'absence d'une connaissance précise sur la stabilité (ou l'instabilité) du marqueur étudié.

2. CARACTERISTIQUES DE LA TECHNIQUE D'ANALYSE UTILISEE

Deux caractéristiques essentielles conditionnent la qualité de la technique d'analyse :

- le pouvoir de discrimination de la technique d'analyse ; le degré du pouvoir discriminant de la technique conditionne sa **sensibilité**, c'est-à-dire sa capacité à différencier des isolats différents (ou son incapacité à le faire : faux négatifs) et sa **spécificité**, c'est-à-dire sa capacité à ne pas différencier des isolats identiques (ou ses erreurs par excès : faux positifs).
- la constance (ou l'inconstance) du résultat obtenu lors de répétition de la technique d'analyse sur le même isolat, dans les mêmes conditions ou dans des conditions variables ; les résultats obtenus lors de répétition de l'analyse dans des conditions strictement identiques correspondent à la **répétabilité (même lieu, même matériel, même manipulateur)** et ceux dans des conditions différentes (*autre lieu, autre matériel, autre manipulateur*) à la **reproductibilité** ;

Aucune conclusion d'hypothèse de lien épidémiologique ne devrait être tirée sans avoir une idée des niveaux de sensibilité, spécificité, répétabilité et reproductibilité de la technique utilisée.

L'interprétation à des fins épidémiologiques des résultats d'étude d'isolats au laboratoire ne devrait donc commencer qu'en possession des deux catégories d'informations évoquées ci-dessus, informations possédées au mieux, le plus souvent, par le biologiste moléculaire ayant effectué les analyses.

Les informations doivent non seulement être disponibles, mais aussi avoir fait l'objet d'une validation par la communauté scientifique : publication, cohérence de résultats d'équipes

différentes. En l'absence de ces caractéristiques de validation, les conclusions ne peuvent être que hasardeuses.

3. PRECAUTIONS NECESSAIRES

La difficulté et les risques découlant de l'interprétation des résultats d'étude d'isolats par rapport à des hypothèses de liens épidémiologiques varient en fonction de la conclusion du laboratoire.

Nous évoquerons successivement les cas de deux isolats différents, de deux isolats non distinguables et de plusieurs isolats.

1. **Isolats différents** : pour deux isolats jugés « différents », dans la mesure où sont connues les caractéristiques du marqueur ainsi que celles de la technique d'analyse utilisée, et où la « distance » entre les deux isolats est jugée significative (c'est-à-dire supérieure à celle que l'on peut s'attendre à trouver pour une même « souche » ayant subi un petit nombre de passages chez différents sujets), il est **possible d'exclure l'hypothèse de l'existence d'un lien épidémiologique** direct, ou indirect court, entre les deux isolats.

Cette situation correspond à une incertitude ou à un risque d'erreur relativement faible, plus faible que celui de l'autre situation.

2. **Isolats non distinguables** : pour deux isolats jugés « non distinguables » par la/les technique(s) utilisée(s), le doute persiste quant à la réalité de la liaison épidémiologique proposée, pour différentes raisons. Et cette incertitude ne doit pas être oubliée.

- En effet, tout d'abord à un moment donné de l'évolution des techniques, **les outils disponibles peuvent ne pas être capables de différencier deux isolats réellement différents** et non reliés entre eux au plan épidémiologique. L'incertitude peut être liée au nombre de caractères étudiés et ayant conduit à la conclusion que les deux isolats ne sont pas distinguables. En cas d'association de plusieurs techniques relatives à des caractères génétiquement indépendants, et de convergence des résultats concernant l'identité de chaque caractère étudié pour les deux isolats, la probabilité d'identité des isolats est fortement augmentée.
- **Ensuite, deux isolats non distinguables peuvent ne pas être reliés épidémiologiquement.** Un lien épidémiologique est défini par la situation sur la même chaîne de transmission. Or, des chaînes indépendantes de transmission d'isolats non distinguables peuvent coexister dans une même zone ou dans un

même pays. La figure 3 en donne un exemple : deux isolats obtenus à la même période, dans une même zone, non distinguables par les techniques disponibles, peuvent néanmoins appartenir à deux chaînes épidémiologiques indépendantes (chaînes de transmission 1 et 2 de la figure 3).

- Par ailleurs, au sein d'une même chaîne épidémiologique, **le sens du lien supposé peut être erroné** (cf. figure 4). L'hypothèse peut être en effet l'existence d'un lien direct (situation 1), alors qu'il s'agit d'un lien indirect (situations 2 et 3 : maillon manquant, ou origine commune).

En prenant l'exemple de la tuberculose bovine et du blaireau, Durr *et al.* [2000] évoquent trois interprétations possibles en cas d'obtention d'isolats non distinguables chez le blaireau et chez les bovins :

- transmission du blaireau aux bovins ;
- transmission des bovins au blaireau ;
- transmission à partir d'une autre espèce sauvage (cerfs...) au blaireau et aux bovins.

Il faut, par ailleurs, rappeler que, comme indiqué ci-dessus, on pourrait avoir également deux chaînes indépendantes de transmission (d'une part, entre blaireaux, d'autre part, entre bovins) et qu'enfin, on peut avoir une ... combinaison ou une co-existence (parfois une succession) de deux sens possibles, par exemple blaireaux aux bovins et bovins aux blaireaux.

Comme indiqué dans l'encadré « Notion de lien épidémiologique », le sens d'un lien épidémiologique peut demeurer incertain.

- La probabilité de justesse de la conclusion en matière d'hypothèse de lien épidémiologique est fonction du degré de diversité des isolats dans une zone géographique.

Soit deux agents pathogènes pour lesquels 100 isolats de chaque ont été obtenus, pendant une période donnée et dans un territoire donné.

Pour le premier, la diversité des isolats est très grande : 98 isolats différents (n° 1 à 98) et deux isolats « non distinguables », n°s 99 et 100.

Pour le second, 50 isolats de type 1 et 50 isolats de type 2.

La probabilité d'un lien épidémiologique entre les deux isolats 99 et 100 du premier agent pathogène est plus élevée que celle de deux isolats donnés de type 1 (ou 2) du second agent pathogène. Une étude épidémiologique des lieux d'origine des isolats a plus de chances de confirmer l'existence d'un lien épidémiologique pour le premier agent que pour le second.

FIGURE 3
Représentation schématique de deux chaînes indépendantes de transmission d'isolats non distinguables dans une même population
 Chaque rond correspond à un sujet d'une chaîne de transmission.
 Chaque astérisque correspond à un isolat.

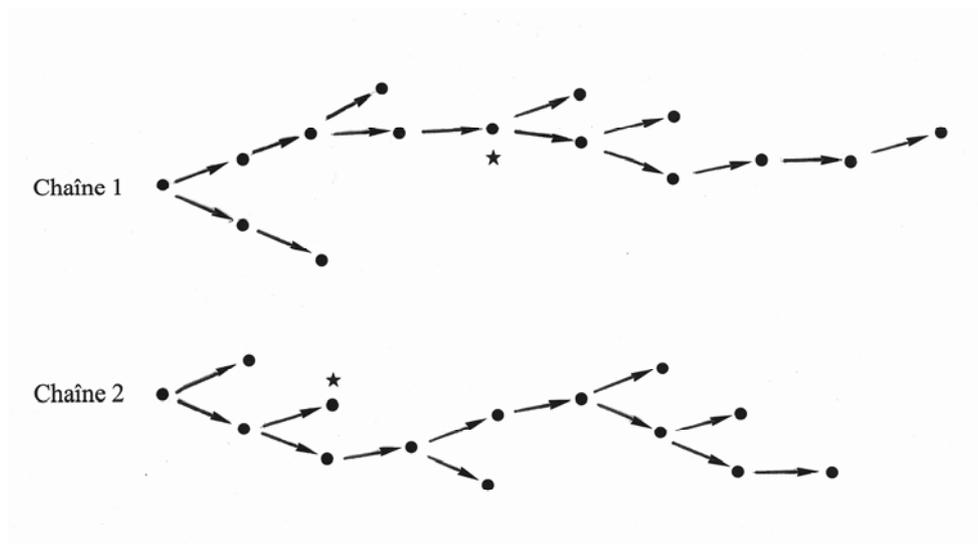
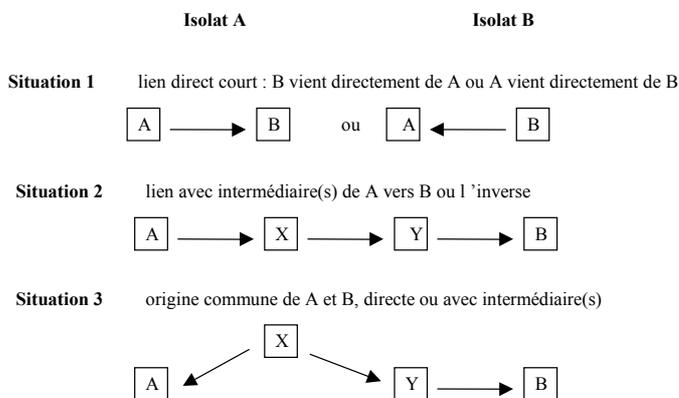


FIGURE 4
Liens épidémiologiques possibles entre deux isolats non distinguables provenant de sujets (ou objets)



- Tout dépend également de la complexité (ou de la simplicité) du cheminement épidémiologique, c'est-à-dire si le cheminement est à ramifications multiples, successives (maladie contagieuse) (cf. figure 5) ou au contraire du type anadémique ou anazootique avec parfois beaucoup de cas, mais en une seule étape (cf. figure 5).

Pour une anadémie ou une anazootie, la question du lien épidémiologique est plus simple car ne reposant que sur un seul maillon.

Pour une maladie transmissible en série, la question est plus complexe.

Pour toutes ces raisons, les conclusions relatives aux relations épidémiologiques entre deux (ou plusieurs) isolats « non distinguables » devraient toujours rester prudentes et prendre en compte l'inévitable incertitude. Les résultats de laboratoire doivent être confortés par des informations d'ordre épidémiologique.

- On pourrait fournir différents exemples d'interprétations erronées, car hâtives (et rectifiées ultérieurement), diffusées largement. Nous en choisirons deux.

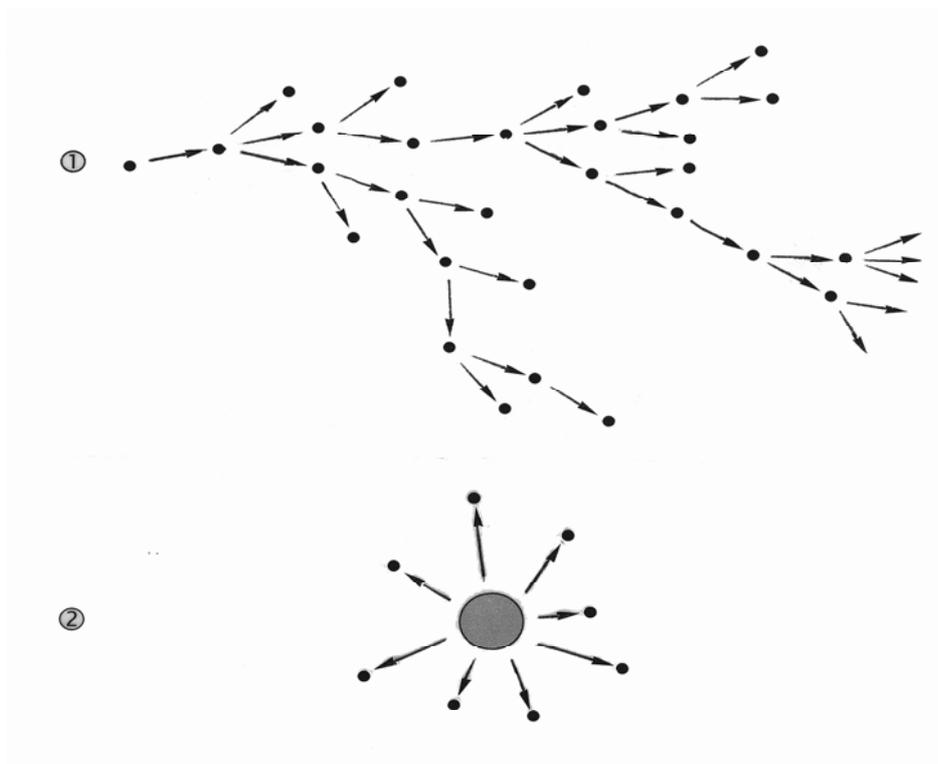
Le premier concerne la mini-épizootie de peste porcine classique ayant sévi au Royaume-Uni en 2000. Le 19 août, une information a été diffusée selon laquelle la Commission européenne considérait (en fonction des résultats de l'étude de l'isolat) que l'origine était constituée par un sanglier importé d'Asie deux ans auparavant. Le 22 août, il était précisé qu'en fait, la souche appartenait au même groupe génétique (groupe 2.1) que celui des souches

responsables des épizooties ayant sévi en Belgique, en Italie, aux Pays-Bas et en Espagne en 1997-1998 !

Le deuxième exemple porte sur l'origine de l'épizootie de la fièvre aphteuse ayant sévi au Royaume-Uni en 2001. L'étroite parenté du virus O isolé en Afrique du sud et de la souche Pan Asia du Royaume-Uni a conduit certains à envisager l'Afrique du sud comme source de contamination du Royaume-Uni... en oubliant que ces deux pays pouvaient avoir été contaminés à partir d'une source commune (situation 3 de la figure 4).

FIGURE 5

Représentation schématique d'un cheminement épidémiologique complexe (1) (maladie contagieuse) et d'un cheminement épidémiologique simple (2) (anadémie ou anazootie)



3. **Plusieurs isolats** : La constitution de dendrogrammes pour des banques d'isolats régulièrement complétées permet de suivre l'évolution des isolats d'un même agent pathogène dans le temps et dans l'espace. La connaissance de caractéristiques épidémiologiques de base (lieu d'isolement, date, espèce d'origine) permet de conforter l'existence d'agrégats géographiques et/ou par espèce animale pour certains agents pathogènes ainsi que l'évolution chronologique.

L'isolement en un lieu donné d'une souche ayant des caractéristiques inhabituelles (par rapport à ce lieu) peut conduire à une hypothèse d'origine géographique différente qui demande à être vérifiée à l'aide d'investigations épidémiologiques.

Les précautions à respecter sont les mêmes que celles évoquées précédemment.

Ainsi, nous sommes à l'orée du développement et de la « banalisation » de l'emploi de techniques de biologie moléculaire pour l'étude des isolats. Cette masse d'informations nouvelles peut être extrêmement précieuse pour l'épidémiologie. Toutefois, pour éviter des interprétations erronées, des précautions doivent être respectées.

L'utilisation à des fins épidémiologiques de résultats de l'étude au laboratoire d'isolats exige la prise en compte

d'une bonne connaissance du(des) marqueur(s) étudié(s) et de(s) la technique(s) d'analyse employée(s).

Elle doit bénéficier de la collaboration entre spécialistes de laboratoire et épidémiologistes.

Enfin, l'interprétation doit rester prudente et faire apparaître l'incertitude inévitable pour toute hypothèse de lien épidémiologique.

IV - BIBLIOGRAPHIE

Durr P.A., Wilesmith J.W. and Clifton-Hadley R.S. ~ Molecular epidemiology. New wine in need of an old bottle ? *Proceedings 9th Symposium of ISVEE*, Breckenridge, Colorado, August 6-11, 2000, 462-464.

Goldberg T.L., Weigel R.M., Hahn E.C. and Scherba G. ~ Comparative molecular epidemiology and molecular evolution of swine viruses in the Midwestern United States. *Proceedings 9th Symposium of ISVEE*, Breckenridge, Colorado, August 6-11, 2000, 465.

Narbonne V., Le Bris P., Gutierrez M.C. *et al.* ~ Epidémiologie moléculaire de la tuberculose au

sein de la communauté urbaine de Brest. *BEH*, 2000, n° **31**, 131-133.

ProMED-mail promed@promed.Isid.harvard.edu
PRO/AH>Swine fever, classical-UK (06), 19 Aug 2000 21:05:53.

ProMED-mail promed@promed.Isid.harvard.edu
PRO/AH>Swine fever, classical-UK (08), 22 Aug 2000 23:10:05.

Singer R.S., Carpenter T.E., Jeffrey J.S. *et al.* ~ Assessment of selection and misclassification biases in molecular epidemiologic studies. *Proceedings 9th Symposium of ISVEE*, Breckenridge, Colorado, August 6-11, 2000, 561-562.

