ESTIMATION DE LA SENSIBILITE DE DETECTION DE *SALMONELLA* SPP. EN FONCTION DU NOMBRE DE PRELEVEMENTS DANS LES ELEVAGES DE POULES PONDEUSES D'OEUFS DE CONSOMMATION *

Aurélie Mahé [1], Stéphanie Bougeard [1], Adeline Huneau-Salaün [1], Sophie Le Bouquin [1], Isabelle Petetin [1], Sandra Rouxel [1], Françoise Lalande [1], Pierre-Alexandre Beloeil [2] et Nicolas Rose [1]

***RESUME** : Une étude descriptive a été conduite dans 521 élevages de poules pondeuses d'œufs de consommation, du 1er octobre 2004 au 30 septembre 2005, pour estimer la prévalence de contamination des élevages par* Salmonella *spp. Cette enquête de prévalence a été réalisée dans le cadre d'une grande étude européenne destinée à identifier des objectifs de réduction de la prévalence des salmonelles dans les Etats membres. Le schéma d'échantillonnage prescrit par l'annexe technique de la Commission prévoyait la collecte de deux échantillons de poussières et de cinq échantillons de fientes dans chacun des élevages afin d'en déterminer le statut salmonelle. Une approche Bayésienne (modèles à 'classes latentes') a été utilisée pour estimer la sensibilité de détection de protocoles de prélèvements réduits (moins de sept prélèvements) simulés à partir des différentes combinaisons possibles de prélèvements. Pour chaque modèle, le protocole complet (sept prélèvements) et le protocole réduit (<7 prélèvements) ont été considérés comme deux tests corrélés, le principe biologique étant identique. La prévalence entre les élevages en cages et les élevages au sol étant très différente (30,7% versus 8,2% respectivement), ces deux sous-populations ont été étudiées séparément. L'estimation par les méthodes Bayésiennes de la distribution a posteriori de la prévalence et de la sensibilité a indiqué que cinq prélèvements étaient nécessaires dans les élevages en cages pour atteindre une sensibilité équivalente au protocole complet. Pour les élevages au sol, au moins six prélèvements étaient requis. La sensibilité de détection dans les élevages en cages est nettement améliorée en augmentant le nombre de prélèvements de poussières alors que le nombre total de prélèvements, quel que soit le type, prédomine pour les élevages au sol.*

Mots-clés : *Salmonella*, Poules pondeuses, sensibilité de détection, méthodes Bayésiennes.

***SUMMARY**: The prevalence of flocks infected by* Salmonella *spp. was estimated in French laying-hen farms from October, 1st 2004 to September 30th 2005 as part of a European Union-wide baseline study to define targets for* Salmonella *reduction in member states. The sampling scheme prescribed and financed by the European Commission to detect* Salmonella *in laying-hen flocks was based on 2 dust-samples and 5 faeces-samples per farm. A latent-class Bayesian approach for correlated tests was used to estimate the sensitivity of detection of reduced sampling schemes corresponding to the 16 combinations of 2 dust- and 5 faeces-samples. For each model the full sampling scheme (7 samples) and the reduced protocol were considered as two correlated tests, the biological principle being identical.*

* Texte de la communication orale présentée lors de la Journée AEEMA, 1er juin 2007

1 AFSSA-site de Ploufragan, B.P. 53, 22440 Ploufragan, France

2 Direction générale de l'alimentation, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris cedex 15, France

As the apparent prevalence observed in cage flocks (30.7%) was higher than in other systems (barns, outdoor, or organic) (8.2%) these two sub-populations were considered separately. Bayesian estimation of posterior distributions for prevalence and sensitivity indicated that at least 5 samples, including 2 dust samples were necessary to attain sensitivity levels comparable to the full sampling scheme. In alternative flocks at least 6 samples were required to ensure a good estimation of prevalence. Detection sensitivity was improved by increasing the number of dust samples in cage farms and by increasing the total number of samples of any type in alternative farms.

Keywords : *Salmonella*, laying-hen, sensitivity, Bayesian approach.

I - INTRODUCTION

Les salmonelles sont responsables de la majorité des toxi-infections alimentaires collectives dans la plupart des pays européens. En France, de 1996 à 2005, 1 713 foyers et 16 230 cas ont été déclarés à l'origine d'hospitalisations (dans 61% des cas) et parfois de décès (0,13%). Les foyers sont principalement dus à *Salmonella* Enteritidis et Typhimurium (72,8%) ainsi qu'à la consommation d'œufs ou d'ovoproduits (74% de 1996 à 2005) [Delmas *et al.*, 2006]. Au sein de l'Union Européenne, *S*. Enteritidis est le sérotype à l'origine d'infections humaines dans plus de 50% des cas [European Food Safety Authority, 2006]. Le second sérotype le plus souvent incriminé est *S*. Typhimurium, qui est moins associé avec la consommation d'œufs. La directive 'Zoonoses' 2003/99/EC requiert la maîtrise et l'éradication de ces pathogènes. Dans ce contexte, l'Union Européenne a mis en place un programme de réduction de la prévalence de *Salmonella* d'importance en santé publique à l'aide du règlement No 2160/2003. Une étude de prévalence a été conduite dans tous les Etats membres de l'Union dans les élevages commerciaux de poules pondeuses oeufs de consommation (d'au moins 1000 poules par élevage) pour fournir les bases scientifiques d'objectifs de réduction de la prévalence de *Salmonella* dans les élevages de poules pondeuses.

Outre l'objectif spécifique de détermination de la prévalence de contamination des élevages par les salmonelles, une estimation de la sensibilité des protocoles de prélèvements utilisés était aussi requise afin d'élaborer les futures protocoles de surveillance. Les prescriptions techniques pour la sélection des élevages, les détails sur l'échantillonnage à l'intérieur des élevages sont décrits dans les documents de la DG SANCO de la Commission Européenne [European Commission, 2004]. D'après nos connaissances, aucune information quantitative sur la sensibilité des procédures de détection des salmonelles dans les élevages de poules pondeuses n'a déjà été publiée. Le protocole de prélèvement (sept prélèvements par élevage) prescrit par l'Union Européenne pour cette étude ne peut constituer une référence. Le but de cette étude a donc été d'estimer la sensibilité de différentes combinaisons d'échantillons simulées à l'aide des données françaises en utilisant l'approche Bayésienne des modèles dits à 'classes latentes' largement décrits dans la littérature [Enøe *et al.*, 2000 ; Branscum *et al.*, 2005]. La sensibilité et la prévalence estimées à l'aide des protocoles de prélèvement réduits (moins de sept prélèvements) ont été comparées à celles du protocole complet (sept prélèvements) afin de déterminer la possibilité éventuelle de diminuer le nombre de prélèvements dans une perspective d'un futur programme de surveillance.

II - MATERIELS ET METHODES

1. ECHANTILLON D'ETUDE

La population étudiée incluait tous les élevages commerciaux de poules pondeuses œufs de consommation de plus de 1000 poules. La liste des élevages répondant aux critères d'inclusion a été établie par la DGAl à partir des déclarations effectuées aux services vétérinaires départementaux. La taille de l'échantillon d'étude a été déterminée selon les prescriptions du document technique de la Commission Européenne DG SANCO [European Commission, 2004] avec une prévalence attendue de 20%, un niveau de confiance de 95% et une précision absolue de 3%. Les pays devaient aussi stratifier la population selon la taille des exploitations (cinq strates différentes). En fonction de ces critères, la France a inclus 524 élevages qui ont été sélectionnés aléatoirement à partir de la liste officielle des élevages commerciaux de poules pondeuses (proc SURVEYSELECT, [SAS Institute Inc., 2002]) et 521 observations ont pu être utilisées pour estimer la sensibilité de la procédure d'échantillonnage.

Les élevages sélectionnés devaient être visités à la fin de la période de ponte et dans un intervalle maximum de neuf semaines avant le vide du bâtiment. Lorsque sur un élevage, plusieurs bandes correspondaient aux critères, une d'entre elles a été sélectionnée aléatoirement.

2. ECHANTILLONNAGE DANS UN ELEVAGE POUR DETERMINATION DU STATUT SALMONELLE

Le document technique de la Commission Européenne [European Commission, 2004] prévoyait la réalisation de prélèvements à partir de matières fécales et de l'environnement des animaux. Sept échantillons devaient être collectés dans chaque élevage :

- Elevages en cages : cinq échantillons de fientes mélangées pris sur les tapis convoyeurs, les racloirs ou dans les fosses selon le type de bâtiment. Chaque échantillon devait contenir 200 à 300 g de fientes. En complément, deux échantillons de poussière devaient être collectés en dessous des cages (2x250 ml).
- Elevages au sol et élevages plein air (appelés ici élevages 'alternatifs') : les sept échantillons devaient inclure cinq paires de chiffonnettes appliquées sur la litière (ou 'pédi-chiffonnettes'); un échantillon de poussière pris au niveau des bandes convoyeuses d'œufs (250 ml) et un autre pris à différents endroits du bâtiment (250 ml).

Les prélèvements ont été collectés par les services vétérinaires sur l'ensemble du territoire, coordonnés notamment par une note de service de la DGAl [Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation de la Pêche et des Affaires Rurales, 2004]. Le lot a été considéré positif si au moins un prélèvement était contaminé.

3. ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les analyses bactériologiques pour recherche de *Salmonella* ont été réalisées au centre National de Référence pour les salmonelles en productions avicoles (AFSSA - site de Ploufragan), selon la norme modifiée ISO standard 6579 (2002). Cette procédure inclut un pré-enrichissement en eau peptonnée tamponnée (AES Laboratoires, Combourg, France), suivi d'un enrichissement unique sur milieu semi solide de Rappaport Vassiliadis (MSRV) (Merck, Nogent sur Marne, France) incubé à 41,5 +/- 1°C pendant 2x (24 +/- 3) heures. Le sérotypage a été conduit selon le schéma de Kauffmann-White. La sensibilité estimée de l'ensemble de la procédure bactériologique est de 0,90 d'après les résultats de Voogt *et al.* [2001].

4. ANALYSE STATISTIQUE

4.1. ESTIMATION DE LA PREVALENCE APPARENTE AVEC LE PROTOCOLE COMPLET (SEPT ECHANTILLONS)

Le schéma d'échantillonnage complexe (stratification selon la taille, pondération inégale selon la population présente dans chaque région) a été pris en compte pour estimer la prévalence apparente à l'aide du protocole à sept prélèvements en utilisant la procédure Proc SURVEYFREQ [SAS Institute Inc., 2002].

4.2 MODELE ET HYPOTHESES POUR ESTIMER LA SENSIBILITE DES PROTOCOLES DE PRELEVEMENTS REDUITS

Le protocole complet à sept prélèvements a été considéré comme un test et le protocole réduit à moins de sept prélèvements comme un autre test, mais conditionnellement dépendant du premier parce que les procédés biologiques sont identiques (la seule différence étant le nombre de prélèvements). Le modèle décrit par Branscum *et al.* [2005] a été appliqué pour estimer les caractéristiques de ces deux tests corrélés à partir d'une population unique et sans test de référence. Dans notre cas, la spécificité de la procédure d'échantillonnage a été fixée à 1 en raison de l'impossibilité d'observer des résultats faussement positifs à partir du moment où l'identification bactériologique et la caractérisation biochimique concluent à la présence de *Salmonella* spp. Les données peuvent ainsi être représentées sous la forme $y = (y_{11}, y_{12}, y_{21}, y_{22})$, correspondant aux résultats croisés des deux tests pour les n lots testés à partir de la population.

$$y \sim \text{multinomiale}\left(n, (p_{11}, p_{12}, p_{21}, p_{22})\right),$$

$$p_{11} = P\left(T_1^+, T_2^+\right) = \pi\left(Se_1 Se_2 + \text{cov}_{D^+}\right)$$

$$p_{12} = P\left(T_1^+, T_2^-\right) = \pi\left(Se_1(1 - Se_2) - \text{cov}_{D^+}\right)$$

$$p_{21} = P\left(T_1^-, T_2^+\right) = \pi\left((1 - Se_1)Se_2 - \text{cov}_{D^+}\right)$$

$$p_{22} = P\left(T_1^-, T_2^-\right) = \pi\left((1 - Se_1)(1 - Se_2) + \text{cov}_{D^+}\right) + (1 - \pi)$$

avec π la prévalence réelle, Se_1 et Se_2 les sensibilités du test 1 (protocole complet, T_1) et du test 2 (protocole réduit, T_2) respectivement, et cov_{D^+}, la covariance entre les deux tests pour les lots infectés ($\text{cov}_{D^+} = Se_{11} - Se_1 Se_2$).

4.3. DISTRIBUTIONS *A PRIORI*

Des distributions Beta Be(a,b), ont été utilisées en tant qu'*a priori* pour les paramètres à estimer (sensibilités, prévalence). L'hypothèse a été faite que pour le protocole complet avec sept prélèvements, la valeur la plus probable pour la sensibilité incluant l'étape d'échantillonnage et d'analyse bactériologique, était proche de 0,80 avec 95% de certitude d'être comprise entre 0,70 et 0,85 ; conduisant à une distribution Beta de type Be(100,25). Les distributions *a priori* pour la sensibilité et la prévalence des procédures d'échantillonnage réduites ont été déterminées à partir de simulations sur les données. Seize combinaisons différentes (tableau 1) ont été simulées à partir des sept échantillons (cinq fientes et deux poussières). Le nombre requis de prélèvements de poussières et de fientes a été sélectionné par tirage au sort pour chaque combinaison et pour chaque élevage pour en déterminer le statut salmonelles à partir de ce protocole réduit (au moins un prélèvement positif). L'opération conduite pour les 521 élevages a permis d'établir une proportion d'élevages à réponse positive à partir de ce protocole réduit (prévalence apparente) qui, comparée à la prévalence apparente selon le protocole complet, a permis de calculer une sensibilité relative du protocole d'échantillonnage réduit. Cette simulation a été conduite 100 fois pour chacune des 16 combinaisons de protocoles réduits afin d'en déduire une distribution pour la prévalence apparente et la sensibilité relative du protocole réduit. Des *a priori* modérément informatifs ont ainsi été obtenus en calculant les paramètres des lois Beta (tableau 1) correspondant à la moyenne des distributions observées et en utilisant des variances de 10^{-4} pour la prévalence et 10^{-3} pour la sensibilité. Les simulations et le calcul des paramètres des lois Beta ont été programmés à l'aide du logiciel R [Ihaka et Gentleman, 1996]. Cette procédure a été conduite séparément pour les élevages en cages et les élevages alternatifs.

4.4. MISE EN ŒUVRE DU MODELE

Le logiciel WinBUGS [Spiegelhalter *et al.*, 1996] a été utilisé. L'estimation des paramètres est fondée sur les résultats de 10 000 itérations de l'échantillonneur de Gibbs avec une phase de 'chauffe' de 1000 itérations (exclues des statistiques). Trois chaînes ont été lancées en parallèle avec différentes valeurs initiales qui ont été tirées au sort dans des lois uniformes (0, 1). Les 16 modèles ont été conduits successivement à l'aide du package R2WinBUGS [Gelman *et al.*, 2006] qui permet de gérer WinBUGS à partir du logiciel R et de stocker les objets MCMC (Monte Carlo Markov Chains) pour des analyses futures.

Tableau 1

Paramètres a et b des distribution Beta (Be(a,b)) obtenus à partir des simulations et utilisées en tant qu'*a priori* pour la prévalence apparente et la sensibilité des 16 combinaisons de prélèvements (table correspondant à la sous-population des élevages en cages)

Combinaison	Prevalence apparente			Sensibilité relative		
	Moyenne estimée‡	a	B	Moyenne estimée‡	a	b
0 P[?] + 1 F[†]	0,11	112,8	887,1	0,24	42,7	137,3
0 P + 2 F	0,16	204,5	1109,0	0,33	71,8	147,4
0 P + 3 F	0,18	268,3	1213,6	0,38	89,4	145,4
0 P + 4 F	0,20	316,0	1274,8	0,42	101,0	141,1
0 P + 5 F	0,21	344,4	1306,0	0,44	107,6	137,6
1 P + 0 F	0,19	281,9	1232,2	0,39	92,9	144,4
1 P + 1 F	0,22	371,9	1332,8	0,46	113,5	133,8
1 P + 2 F	0,24	436,0	1384,4	0,50	125,4	123,6
1 P + 3 F	0,25	481,5	1413,1	0,53	132,4	115,4
1 P + 4 F	0,26	509,2	1427,7	0,55	136,1	110,1
1 P + 5 F	0,27	530,2	1437,4	0,57	138,6	106,0
2 P + 0 F	0,25	461,7	1401,4	0,52	129,5	119,0
2 P + 1 F	0,27	534,7	1439,3	0,57	139,1	105,1
2 P + 2 F	0,28	572,5	1453,7	0,59	142,7	97,5
2 P + 3 F	0,29	601,4	1462,4	0,61	144,8	91,5
2 P + 4 F	0,30	630,6	1469,5	0,63	146,3	85,4

[?]P: Prélèvement de poussières
[†]F: Prélèvement de fientes
[‡]Moyenne estimée des distributions obtenues à partir des 100 valeurs simulées.

4.5. Verification de la convergence des chaines

Pour permettre l'utilisation des distributions *a posteriori* produites par l'échantillonneur de Gibbs, il est nécessaire de diagnostiquer un éventuel défaut de convergence. Il est généralement admis que la convergence d'une chaîne vers la distribution à échantillonner ne peut être établie avec certitude. Il est seulement possible de dire si une chaîne n'a manifestement pas convergé [Raftery et Lewis, 1992 ; Toft *et al.*, 2007]. Plusieurs tests sont donc nécessaires pour évaluer la bonne convergence des chaînes MCMC [Brooks et Roberts, 1998]. Nous avons évalué la convergence des chaînes produites et stockées à l'aide de R2WinBUGS pour chacun des modèles en utilisant le package R-CODA [Best *et al.*, 1995]. L'étude visuelle des tracés des historiques produits pour chaque modèle a permis de détecter une éventuelle mauvaise 'mélangeance' ; et les tests de Heidelberger [Heidelberger et Welch, 1983] et de Raftery et Lewis [Raftery et Lewis, 1992] pour la convergence des chaînes uniques ont été appliqués. Le test de Gelman-Rubin [Brooks et Gelman, 1998] a été conduit en outre pour vérifier la convergence de trois chaînes issues de différentes valeurs initiales. L'absence d'auto-corrélation a aussi été vérifiée.

4.6. Analyse de sensibilite

L'influence du choix des distributions *a priori* sur les paramètres estimés a été étudiée en utilisant des distributions uniformes (0, 1) pour la sensibilité et la prévalence et en comparant les distributions *a posteriori* obtenues pour les paramètres.

III - RESULTATS

1. PREVALENCE APPARENTE OBSERVEE AVEC LE PROTOCOLE COMPLET (SEPT PRELEVEMENTS)

L'échantillon d'élevages de poules pondeuses a été obtenu à partir de différents systèmes (tableau 2). La prévalence apparente dans les élevages en cages (30,7%) était plus importante que dans les élevages dits alternatifs (sol, plein-air, biologiques) (8,2%) (tableau 2). Le système d'élevage dans cette dernière catégorie étant assez homogène (oiseaux élevés au sol, sans cage) avec des échantillons de fientes similaires et un niveau de prévalence comparable, ils ont été groupés pour les analyses qui suivent.

Tableau 2

Prévalence apparente observée de contamination des élevages par *Salmonella* spp. pour les différentes catégories d'élevages et fondée sur le résultat des sept prélèvements par élevage (France 2005)

Type d'élevage	n	Infectés	Pr[†]	IC (95%)[‡]	
Cage	230	70	0,307	0,25	0,36
Alternatif	291	23	0,082	0,054	0,11
Sol	26	3	0,123	0,007	0,24
Plein-air	193	12	0,063	0,032	0,093
Biologique	72	8	0,121	0,052	0,19

[†] Prévalence estimée avec prise en compte du schéma d'étude (stratification et pondération inégale selon la région).

[‡] Intervalle de confiance fondé sur l'estimation de la variance de la prévalence estimée.

2. ESTIMATION SELON L'APPROCHE BAYESIENNE DE LA SENSIBILITE POUR LES PROTOCOLES D'ECHANTILLONNAGES REDUITS

Les résultats croisés entre le protocole complet et les 16 protocoles réduits simulés sont décrits dans le tableau 3 pour chaque sous-population (cage et élevages alternatifs). Les diagnostics de convergence pour chacun des modèles étaient satisfaisants et indiquaient un nombre suffisant d'itérations pour l'inférence statistique. La médiane de la distribution *a posteriori* de la sensibilité du protocole complet (sept échantillons) est trouvée proche de 80% dans les différents modèles appliqués aux 16 combinaisons. La sensibilité de la procédure d'échantillonnage s'accroît avec le nombre de prélèvements pour les élevages en cages et alternatifs (figures 1 et 2). La sensibilité de détection de *Salmonella* spp. pour les élevages en cages et pour la combinaison de prélèvements associant deux poussières et au moins trois fientes est comparable à celle estimée pour le protocole complet. Deux poussières et quatre fientes sont en revanche requises pour assurer une bonne sensibilité de détection dans les élevages alternatifs. La sensibilité de détection est nettement améliorée par l'augmentation du nombre de prélèvements de poussières dans le cas des élevages en cages (figure 1) et par l'augmentation du nombre total de prélèvements, quel que soit leur type, pour les élevages alternatifs (figure 2).

L'analyse de sensibilité conduite en utilisant des distributions uniformes pour les lois *a priori* suggère que les résultats obtenus sont modérément dépendants du choix des distributions *a priori* (intervalles de crédibilité plus larges dans le cas des distributions uniformes non informatives) mais qualitativement comparables.

Tableau 3

Résultats croisés des 16 combinaisons simulées de prélèvements comparées au protocole complet (sept prélèvements) pour les élevages en cages et les élevages alternatifs

Combinaison de prélèvements	Elevages en cages				Elevages alternatifs			
	N_{11}[?]	N_{12}	N_{21}	N_{22}	N_{11}	N_{12}	N_{21}	N_{22}
0 P[†] + 1 F[‡]	26	44	0	160	9	14	0	268
0 P + 2 F	36	34	0	160	13	10	0	268
0 P + 3 F	42	28	0	160	16	7	0	268
0 P + 4 F	45	25	0	160	19	4	0	268
0 P + 5 F	48	22	0	160	21	2	0	268
1 P + 0 F	43	27	0	160	8	15	0	268
1 P + 1 F	51	19	0	160	12	11	0	268
1 P + 2 F	55	15	0	160	15	8	0	268
1 P + 3 F	58	12	0	160	18	5	0	268
1 P + 4 F	60	10	0	160	21	2	0	268
1 P + 5 F	62	8	0	160	22	1	0	268
2 P + 0 F	57	13	0	160	12	11	0	268
2 P + 1 F	62	8	0	160	15	8	0	268
2 P + 2 F	62	8	0	160	18	5	0	268
2 P + 3 F	67	3	0	160	20	3	0	268
2 P + 4 F	69	1	0	160	22	1	0	268

[?] N_{ij} : résultat croisé (nombre d'élevages) entre le protocole complet (i) et le protocole réduit (j) avec i ou j = 1 pour un résultat positif *Salmonella* spp. et i ou j = 2 pour un résultat négatif.

[†] P : Prélèvement de poussières

[‡] F : Prélèvements de fientes

Figure 1

Elevages en cages : distribution *a posteriori* de la sensibilité de détection de *Salmonella* spp. pour les 16 combinaisons de prélèvements (en noir) et pour le protocole complet (en gris)

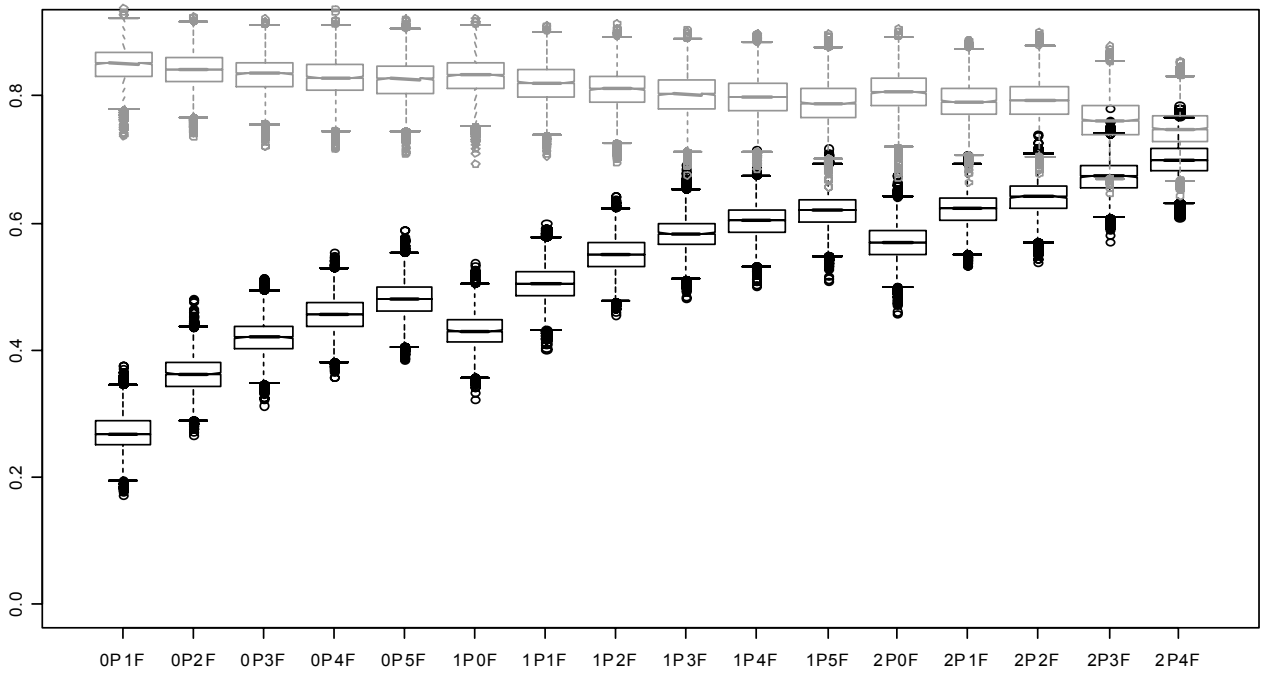
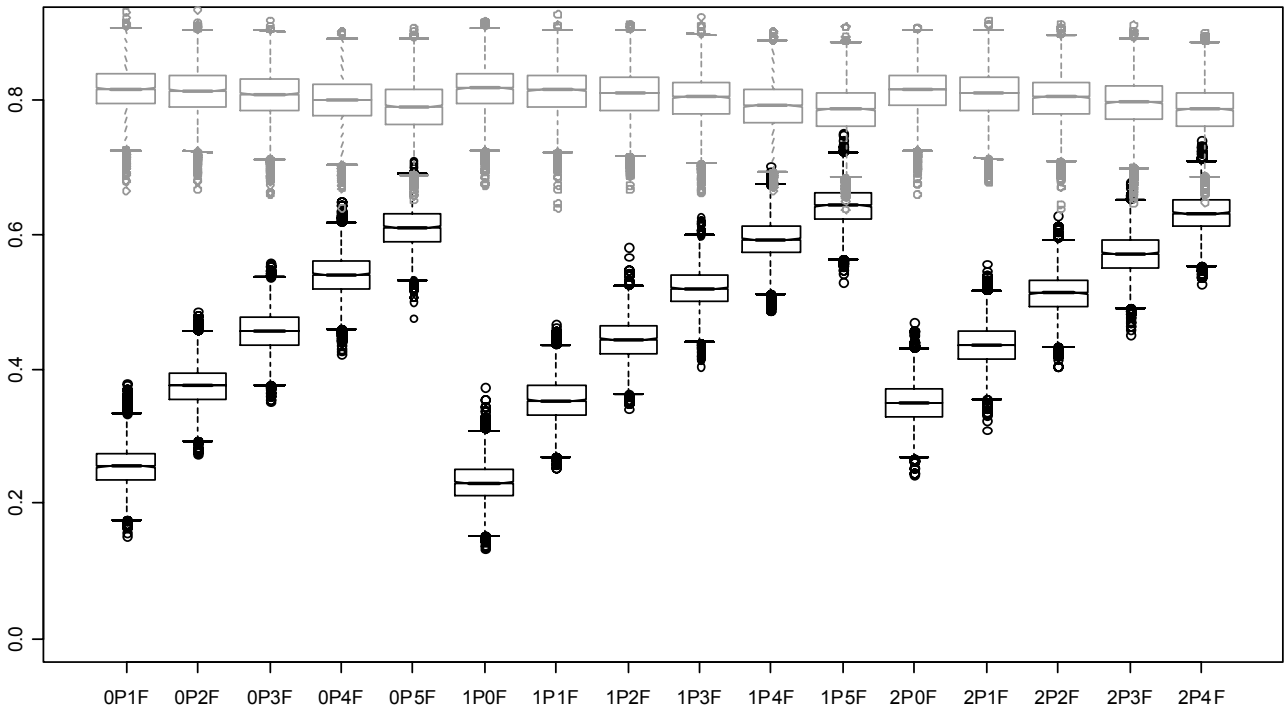


Figure 2

Elevages alternatifs : distribution *a posteriori* de la sensibilité de détection de *Salmonella* spp. pour les 16 combinaisons de prélèvements (en noir) et pour le protocole complet (en gris)



IV - DISCUSSION

Cette étude de prévalence donne la première description représentative de la situation des élevages Français de poules pondeuses d'oeufs de consommation vis-à-vis de *Salmonella* spp. La prévalence de *Salmonella* spp. diffère considérablement selon le type d'élevages (cages/sol), ce qui peut être en partie du à un effet de confusion lié à la taille des lots, le nombre de poules dans les élevages en cages étant significativement plus élevé que dans les élevages au sol en claustration, plein air ou *a fortiori* en élevage biologique. Cette différence importante, en terme de prévalence, nous a conduit à considérer séparément ces deux sous-populations. De plus, la nature des échantillons de fientes pris dans chacun des systèmes diffère aussi (fientes regroupées et prélevées sur des racleurs, des tapis ou dans des fosses dans le cas des élevages en cages, contre des prélèvements de type pédi-chiffonnettes pour les élevages au sol).

La population n'a pu être considérée comme une population infinie et la complexité du plan d'échantillonnage (stratification selon la taille avec une pondération inégale selon la région d'origine) a imposé une correction de l'estimation pour extrapoler les résultats à la population d'étude. La prévalence apparente observée à partir du protocole complet (sept prélèvements) a ainsi été calculée à l'aide de la méthode de Taylor [Woodruff, 1971 ; Fuller, 1975], basée sur une approximation linéaire de la valeur estimée de prévalence. L'estimation de la variance pour cette approximation est alors utilisée pour déterminer la variance de la prévalence estimée et en déduire un intervalle de confiance. Cette procédure conduit à une estimation de prévalence corrigée pouvant être extrapolée à la population d'étude.

Les modèles dits à 'classes latentes' qui font appel aux approches Bayésiennes sont aujourd'hui largement utilisés pour estimer la sensibilité de tests diagnostics en l'absence de référence ou 'gold standard' [Enøe *et al.*, 2001 ; Geurden *et al.*, 2006 ; Kostoulas *et al.*, 2006a ; Kostoulas *et al.*, 2006b]. La sensibilité, dans le contexte de détection de *Salmonella* dans les élevages de pondeuses, est un élément crucial parce que les prélèvements sont réalisés à partir de l'environnement des animaux et non à partir des oiseaux eux-mêmes, procurant ainsi une image indirecte de l'excrétion des salmonelles par les poules dans leur environnement. La probabilité de détecter *Salmonella* dans un lot infecté est ainsi étroitement liée au nombre de prélèvements effectués. Le type de prélèvement (poussière, fiente) peut aussi être une source de variation de sensibilité. Dans une telle étude réalisée dans un nombre important d'élevages, le choix du nombre d'échantillons doit concilier des contraintes scientifiques (meilleure sensibilité de détection) avec des critères économiques, le traitement bactériologique de chaque échantillon étant relativement coûteux. Un nombre fini n de prélèvements ne peut en théorie être considéré comme une référence et ce quel que soit le nombre ; n+1 prélèvements permettant théoriquement d'accroître la probabilité de détection. Ceci illustre l'intérêt de l'approche Bayésienne pour cette problématique pour estimer les caractéristiques d'un protocole d'échan-tillonnage en l'absence de référence. La spécificité, contrairement à la sensibilité n'est pas l'élément central pour cette problématique, les techniques d'identification bactériologique rendant caduque la possibilité de faux positifs. C'est pour cette raison que la spécificité est fixée à 1 dans les différents modèles utilisés ici.

Les méthodes Bayésiennes permettent d'incorporer des connaissances *a priori,* à partir de données publiées ou d'expertises, au processus de modélisation [Branscum *et al.*, 2005]. Aucune donnée sur la détection des salmonelles dans les élevages de poules pondeuses et utilisant des méthodes de détection comparables, n'est à notre connaissance publiée. Nous avons alors décidé d'utiliser des *a priori* modérément informatifs pour la prévalence et la sensibilité des protocoles réduits basés sur un exercice de simulation à l'aide de nos données. Cette sélection aléatoire d'un sous-échantillonnage à partir des sept prélèvements a permis d'obtenir des distributions pour la prévalence apparente et la sensibilité relative comparée au protocole complet. L'analyse de sensibilité réalisée à l'aide de distributions *a priori* non informatives (lois uniformes) a révélé une influence très modérée du choix des *a priori* conduisant essentiellement à des intervalles de crédibilité plus larges dans ce dernier cas, traduisant une plus grande incertitude.

Les résultats ont montré que le nombre total de prélèvements dans les élevages en cages pouvait être réduit de sept à cinq (deux poussières et trois fientes) sans dégrader de manière trop importante la sensibilité de détection et en gardant une estimation de prévalence comparable. La prévalence de *Salmonella* spp. a été trouvée plus faible pour les élevages alternatifs et six prélèvements (deux poussières et quatre fientes ou une poussière et cinq fientes) doivent être pris pour assurer une sensibilité de détection suffisante. Ceci peut laisser supposer que la prévalence intra-lot d'excrétion des salmonelles dans les élevages alternatifs infectés est moins élevée parce que les poules sont élevées au sol et que la densité ainsi que le nombre total de poules sont moins importants que dans les élevages en cages. Nous avons aussi observé que le type de prélèvement était essentiel et que l'accroissement du nombre de prélèvements de poussières dans les élevages en cages permettait d'améliorer la sensibilité de détection. Dans les élevages alternatifs, l'élément majeur est le nombre total de prélèvements réalisés. Aucune différence significative n'a été mise en évidence en comparant différentes combinaisons pour lesquelles le nombre total de prélèvements était similaire mais incluant 0, 1 ou 2 poussières. Ceci peut suggérer une distribution plus éparse des salmonelles dans l'environnement lorsque les élevages au sol sont infectés et que plusieurs prélèvements (au moins six) doivent être répartis sur l'ensemble de la surface d'élevage.

L'étude européenne d'estimation de la prévalence de *Salmonella* dans les différents Etats membres de l'Union doit aboutir à des objectifs de réduction adaptés à la situation de chaque pays. Le contrôle de l'atteinte progressive des objectifs fixés nécessitera des programmes de surveillance standardisés. Les résultats fournis par cette étude peuvent contribuer à établir des bases quantifiées pour définir les schémas de prélèvement combinant une bonne sensibilité de détection et un coût maîtrisé.

BIBLIOGRAPHIE

Best N.G., Cowles M.K., Vines S.K. - CODA Manual version 0.30, Cambridge, UK, 1995.

Branscum A.J., Gardner I.A., Johnson W.O. - Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modelling. *Prev. Vet. Med.*, 2005, **68**(2-4), 145-163.

Brooks S.P., Gelman A. - Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *J. Comp. Graph. Statist.*, 1998, **7**, 434-455.

Brooks S.P., Roberts G.O. - Convergence assessment techniques for Markov chain Monte Carlo. *Statist. Comput.*, 1998, **8**, 319-335.

Delmas G., Gallay A., Espié E., Haeghebaert S., Pihier N., Weill F.X., De Valk H., Vaillant V., Désenclos J.C. - Foodborne-diseases outbreaks in France between 1996 and 2005. *B. E. H.*, 2006, **51-52**, 418-422.

Enøe C., Andersen S., Sørensen V., Willeberg P. - Estimation of sensitivity, specificity and predictive values of two serologic tests for the detection of antibodies against *actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in the absence of a reference test (gold standard). *Prev. Vet. Med.*, 2001, **51**(3-4), 227-243.

Enøe C., Georgiadis M.P., Johnson W.O. - Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**(1-2), 61-81.

European Commission - Baseline study on the prevalence of Salmonella in laying flocks of *Gallus gallus* in the EU. Technical specifications, 16, Vol. SANCO/34/2004 Rev3, 2004.

European Food Safety Authority - The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005. The EFSA Journal, Vol. 94, 2006.

Fuller W.A. - Regression Analysis for Sample Survey. Sankhy, 1975, **37**, Series C, 117-132.

Gelman A., Sturtz S., Ligges U., Gorjanc G., Kerman J. - The R2WinBUGS Package Manual Version 2.0-4, New York, USA, 2006.

Geurden T., Berkvens D., Geldhof P., Vercruysse J., Claerebout E. - A Bayesian approach for the evaluation of six diagnostic assays and the estimation of *Cryptosporidium* prevalence in dairy calves. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 671-682.

Heidelberger P., Welch P.D. - Simulation run length control in the presence of an initial transient. *Opns. Res.*, 1983, **31**, 1109-1144.

Ihaka R., Gentleman R. - R: a language for data analysis and graphics. *J. Comp. Graph. Statist.*, 1996, **5**, 299-314.

Kostoulas P., Leontides L., Billinis C., Florou M. - Application of a semi-dependent latent model in the Bayesian estimation of the sensitivity and specificity of two faecal culture methods for diagnosis of paratuberculosis in sub-clinically infected Greek dairy sheep and goats. *Prev. Vet. Med.*, 2006a, **76**(1-2), 121-134.

Kostoulas P., Leontides L., Enøe C., Billinis C., Florou M., Sofia M. - Bayesian estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. *Prev. Vet. Med.*, 2006b, **76**(1-2), 56-73.

Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation de la Pêche et des Affaires Rurales - Note de service DGAL/SDSPA/N2004-8241, 11, 2004.

Raftery A.L., Lewis S. - Comment: one long run with diagnostics: implementation strategies for Markov chain Monte Carlo. *Statist. Sci.*, 1992, **7**, 493-497.

SAS Institute Inc. - SAS/STAT User's Guide. Version 9.1, Cary, NC. USA, 2002.

Spiegelhalter D., Thomas A.T., Best N., Gilks W. - BUGS: Bayesian Inference Using Gibbs Sampling Version 0.50., Cambridge, UK, 1996.

Toft N., Innocent G.T., Gettinby G., Reid S.W.J. - Assessing the convergence of Markov Chain Monte Carlo methods: An example from evaluation of diagnostic tests in absence of a gold standard. *Prev. Vet. Med.*, 2007, **79**(2-4), 244-256.

Voogt N., Raes M., Wannet W.J.B., Henken A.M., Van de Giessen A.W. - Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2001, **32**, 89-92.

Woodruff R.S. - A Simple Method for Approximating the Variance of a Complicated Estimate. *J. Am. Stat. Asso.,* 1971, **66**, 411-414.

Remerciements

Les auteurs remercient les vétérinaires et techniciens des services vétérinaires du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche pour leur participation active à la récolte des données utilisées dans cette étude. Nous remercions aussi le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche et la Commission Européenne pour le support financier.