

ENQUÊTE DE SÉROPRÉVALENCE 2012 SUR LA MALADIE DE SCHMALLEMBERG EN SAÔNE-ET-LOIRE *

Etienne Petit¹, Claire Pelletier² et Vincent Robergeot³

RÉSUMÉ

Dans le département de Saône-et-Loire les premiers foyers cliniques de maladie de Schmallenberg déclarés en 2012 se situaient surtout à l'est et au nord du département, alors que la majeure partie des populations bovine et ovine occupe le sud ouest. Afin d'évaluer l'étendue de la circulation virale et de la protection immunitaire du cheptel dans le département, une enquête de séroprévalence a été menée sur cinq zones identifiées à partir des déclarations de cas cliniques. La base de sondage était constituée des prélèvements de la prophylaxie de l'I.B.R réalisée lors de l'hiver 2011-2012 et a servi à un sondage en grappes visant à estimer une prévalence bovine. Au total, 343 élevages ont été analysés sur un échantillon de 5 individus par le Laboratoire départemental d'analyses de Saône-et-Loire. Les séroprévalences estimées dans chaque zone montrent des différences en partie significatives allant de 5 % pour la zone sans cas déclaré à 79 % pour la zone est, montrant ainsi, d'une part, une bonne corrélation entre les déclarations cliniques et la séroprévalence et, d'autre part, l'hétérogénéité de la circulation virale à l'échelle du département. L'analyse des distributions des résultats d'échantillons par les méthodes proposées par Auvigne et Petit indique globalement quatre niveaux de prévalence intracheptel différents. Les résultats de ces deux méthodes sont discutés.

Mots-clés : Schmallenberg, 2012, enquête sérologique, prévalence, bovin, Saône-et-Loire.

SUMMARY

In the Saône-et-Loire department of France, the first clinical cases of Schmallenberg disease declared in 2012 were reported in the eastern and northern parts of the department although bovine herds and sheep flocks are mostly found in the southwestern area. In order to test how the viral circulation and the immune response of the livestock spread in the department, a serological prevalence survey was conducted in five distinct areas identified thanks to reports of clinical cases. In order to evaluate individual prevalence, the sampling frame was made of bovine samples taken from the I.B.R. survey carried out during the 2011-2012 winter. 343 herds were randomly selected, and 5 samples of each were tested by the Laboratoire Départemental d'Analyses de Saône-et-Loire. The results show that the prevalence may vary from 5% -for an area without clinical cases- to 79% -for the eastern area. Those results highlight a correlation between clinical cases and serological prevalence and illustrate the heterogeneity of viral circulation within a department. The distribution of results in herd samples is analyzed and discussed.

Keywords: Schmallenberg, Bovine, 2012, Serological survey, Prevalence, Saône-et-Loire.



* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 31 mai 2013

¹ F.R.G.D.S Bourgogne, 42, rue de Mulhouse, 21000 Dijon, France

² L.D.A 71, Pôle Santé Animale, 267 rue des Epinoches, 71009 Mâcon Cedex, France

³ G.D.S 71, 1 rue des grands Crus, 71000 Macon-Loche, France

I - CONTEXTE - OBJECTIFS

Le virus de Schmallenberg (SBV) a été identifié en France au début de l'année de 2012 et semble avoir colonisé progressivement au cours de l'automne 2011 le territoire français à partir du Nord Est de la France où il a été observé pour la première fois [EFSA, 2012].

La propagation de cette maladie vectorielle a sans doute connu une phase de pause liée à la baisse hivernale d'activité vectorielle et il est hautement probable que la diffusion du virus ne soit pas homogène à l'échelle de la France [EFSA, 2012].

La mise en place d'un outil sérologique ELISA validé [Bréard, 2012] permet de réaliser des enquêtes sérologiques.

Le Groupement de défense sanitaire, avec le soutien du Laboratoire départemental d'analyses et du Conseil général de Saône-et-Loire, a souhaité

établir un état des lieux de la circulation virale sur ce département afin d'évaluer les risques à venir sur les populations sensibles (ruminants) du département.

Dans ce département, des foyers cliniques de SBV ont été observés surtout à l'est et au nord du département, alors qu'une large partie de la population bovine occupe le sud ouest.

L'enquête de séroprévalence envisagée vise à objectiver ces différences géographiques et à évaluer l'importance du matelas immunitaire présent sur les différentes zones du département, afin d'identifier les zones où une très probable recirculation virale en 2012 pourrait impacter le plus les élevages de ruminants, sous l'hypothèse déduite du virus Akabane que les animaux préalablement infectés sont durablement protégés.

II - MÉTHODE ET OUTILS

Les sérums provenaient de la prophylaxie 2011-2012.

Afin d'évaluer le niveau de couverture immunitaire des animaux, l'enquête visa à établir une séroprévalence individuelle (à l'échelle des bovins).

Cinq zones ont été définies en fonction de la présence de foyers connus ou non (cf. figure 1) et

en fonction de l'orientation agricole des secteurs.

Les zones 1 à 4 (cf. figure 2) représentaient des secteurs plus ou moins touchés par les foyers cliniques et la zone 5 (Charollais, Brionnais), la principale zone inconnue qui n'a pas déclaré de foyers cliniques. Cette zone a comporté la moitié des élevages à analyser.

Figure 1

Foyers déclarés en Saône-et-Loire au 27 juillet 2012 (source : DGAI)

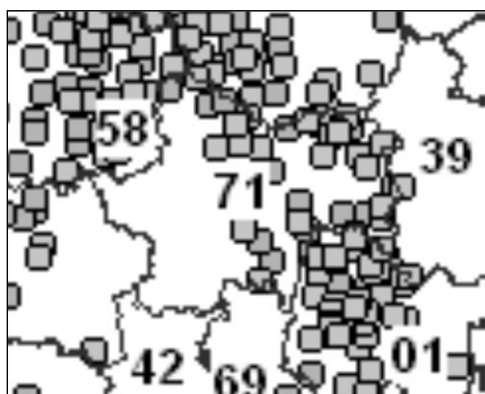
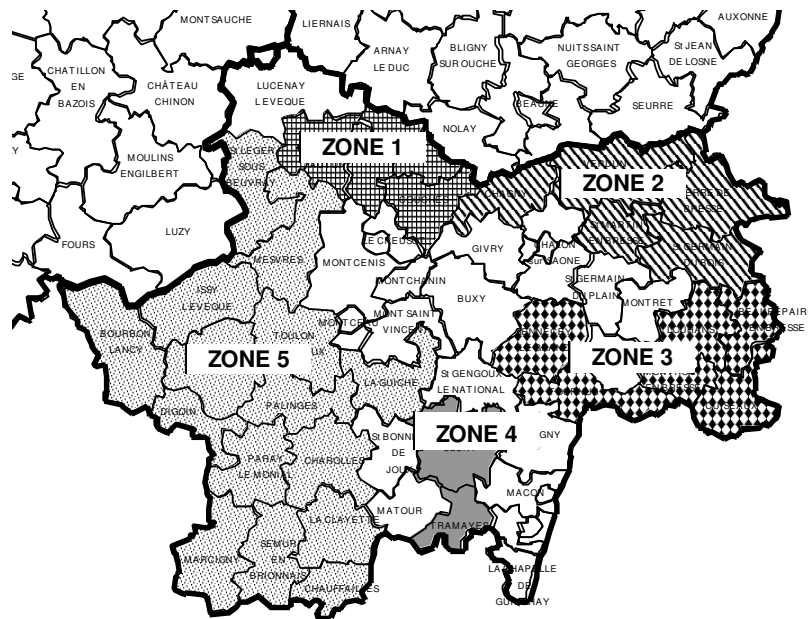


Figure 2
Zonage du sondage



Saône-et-Loire

Pour chaque zone, un échantillonnage à deux degrés a été effectué sur la base de sondage des élevages bovins analysés en prophylaxie (base extraite de SIGAL). Les unités primaires sont les élevages et les unités secondaires les bovins prélevés en prophylaxie.

Pour obtenir une estimation non biaisée de la prévalence bovine, la probabilité de tirage au sort de chaque élevage a été pondérée par son nombre de prises de sang et 5 bovins ont été analysés dans chaque élevage désigné par le sort.

Pour assurer la représentativité géographique du sondage, celui-ci a été également stratifié au

niveau des cantons en affectant un nombre de bovins analysés en fonction de la taille du canton (= nombre de bovins analysés en prophylaxie) arrondi au multiple de 5 le plus proche.

Afin d'approcher la distribution intra élevages des séroprévalences les méthodes proposées par Auvigne et Petit [Auvigne, 2010] ont été utilisées.

Les analyses ont été réalisées par le Laboratoire départemental d'analyses du Conseil général de Saône-et-Loire avec le kit ELISA ID-Vet bicupule (ID SCREEN Schmallenberg Virus Indirect), qui était le seul agréé par l'ANSES au moment de l'étude.

III - RÉSULTATS

Trois cent quarante trois élevages ont été intégrés dans le sondage avec pour chacun cinq bovins analysés. Le tableau 1 présente la distribution des élevages selon les zones et selon le nombre d'individus séropositifs dans l'échantillon.

La figure 3 présente les séroprévalences de chaque zone étudiée.

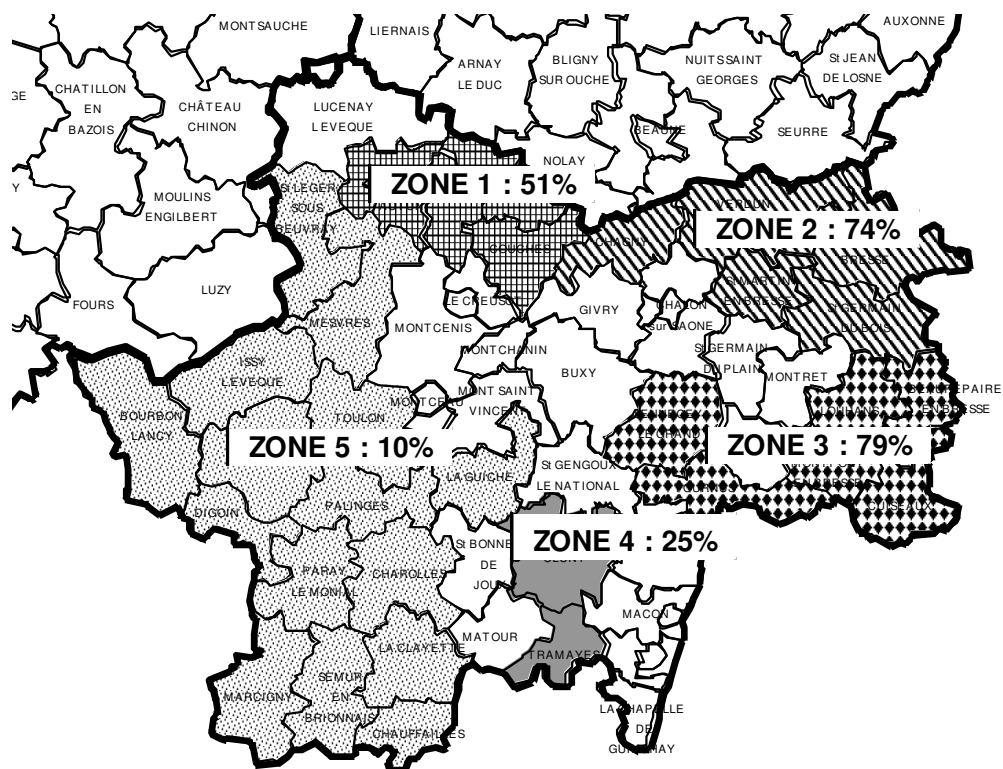
Tableau 1

Nombre d'élevages enquêtés par zone et répartition selon le nombre de positifs présents dans l'échantillon de 5. Séroprévalence bovine par zone.

Nb pos SBV	ZONE 1	ZONE 2	ZONE 3	ZONE 4	ZONE 5	Total
0	3	1	1	16	111	132
1	10	4	1	9	41	65
2	8	3	3	11	12	37
3	10	7	10	6	4	37
4	6	13	8	0	1	28
5	6	16	21	1	0	44
Total	43	44	44	43	169	343
Séro-prévalence bovine	51 %	74 %	79 %	25 %	10 %	
[IC à 95 %]	[44 % ; 58 %]	[68 % ; 80 %]	[74 % ; 84 %]	[19 % ; 31 %]	[8 % ; 12 %]	

Figure 3

Séroprévalence bovine des zones étudiées



Saône-et-Loire

Toutes les zones présentent deux à deux un écart hautement significatif ($p < 10^{-6}$) dans leur séroprévalence à l'exception des zones 2 et 3 ($p = 0,13$).

La figure 4 présente la distribution géographique des bovins analysés selon leur statut. Chaque carré grisé représente un bovin analysé et localisé dans sa commune. On constate visuellement bien sûr la différence de prévalence selon les zones, mais on constate également une certaine répartition homogène des positifs dans la zone 5.

La figure 5 présente la distribution des résultats dans chaque zone en fonction du nombre de positifs contenus dans les échantillons analysés. Si les zones 2 et 3 présentent un profil et une

séroprévalence similaires, les autres zones présentent des distributions radicalement différentes.

La méthode par ajustement ascendant proposée par Auvigne et Petit [2010] vise à rechercher pour chaque distribution le nombre minimal de sous-populations ayant une prévalence intrachepitel commune et fournissant une distribution similaire par le jeu de l'échantillonnage à celle observée. Dans le cas présent, chaque distribution pouvait être reproduite avec deux sous-populations. Le tableau 2 indique pour chaque zone la prévalence intrachepitel de chaque sous-population et sa proportion, ainsi que la qualité de l'ajustement (valeur du $\text{Khi}^2 > 0,9$).

Figure 4

Géolocalisation des bovins analysés

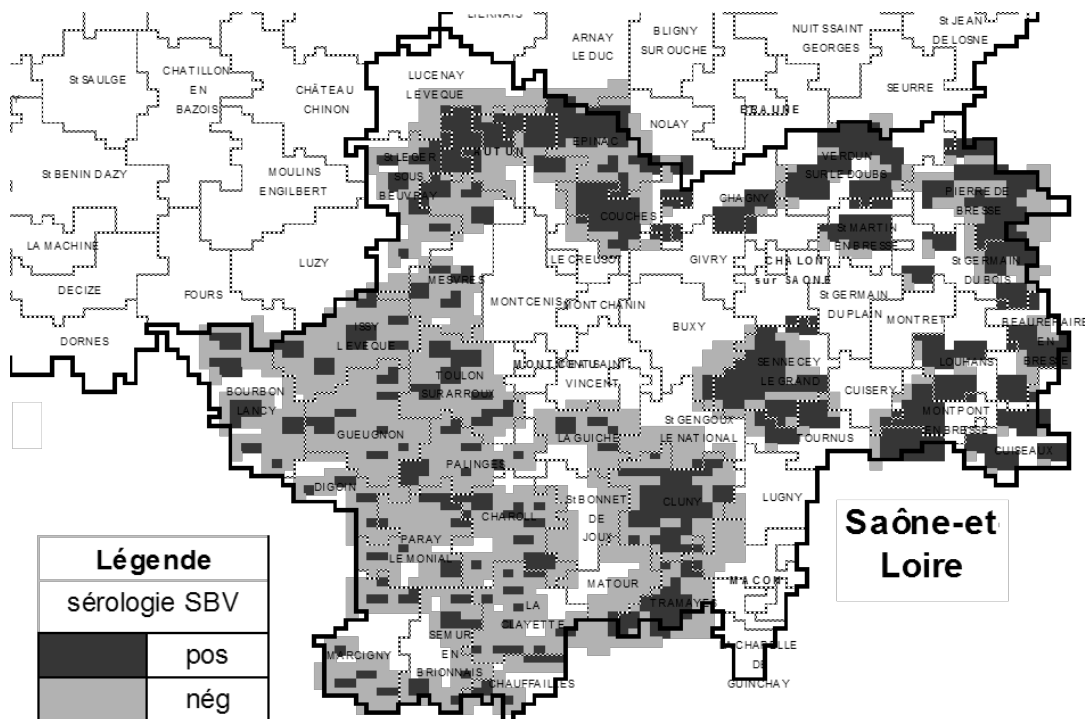


Figure 5

Distribution des résultats dans chaque zone en fonction du nombre de positifs
contenus dans les échantillons analysés

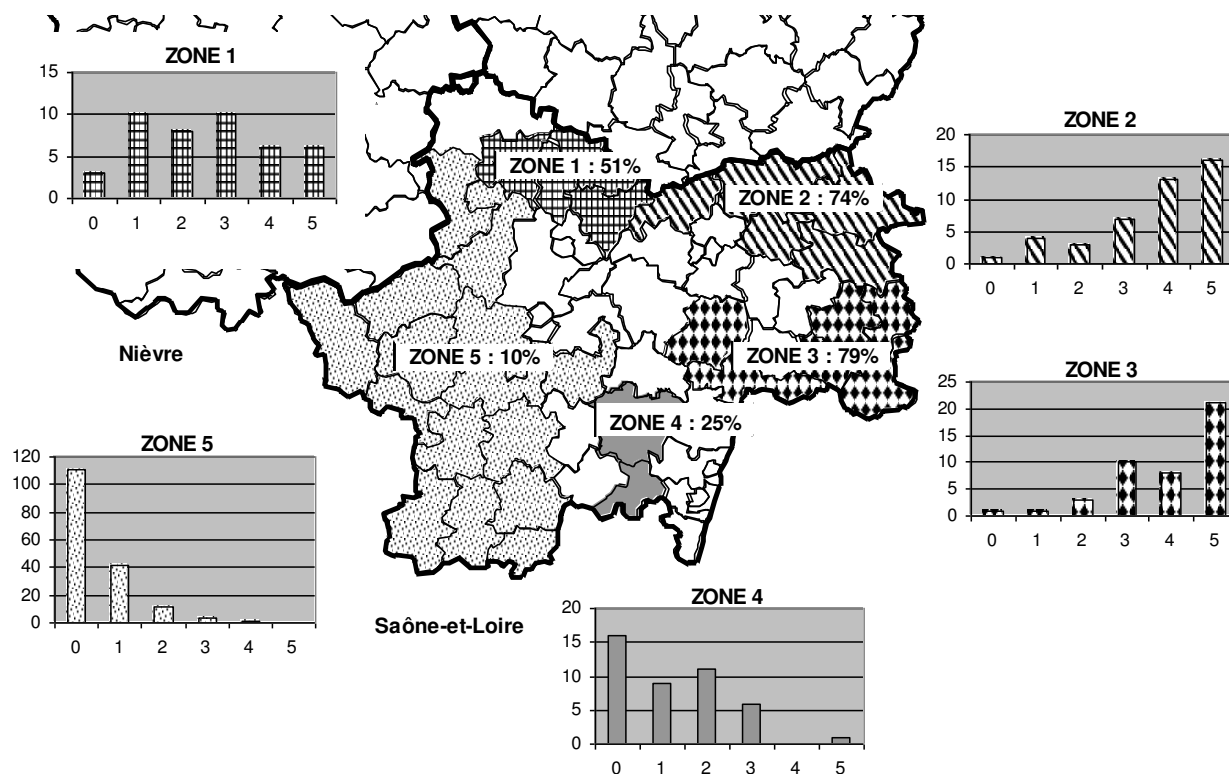


Tableau 2

Estimation des sous-populations de cheptels avec leur prévalence estimée sur chaque zone

	ZONE 1	ZONE 2	ZONE 3	ZONE 4	ZONE 5
Prévalence de la sous-population 1	34 %	33 %	67 %	0 %	6 %
Proportion de la sous-population 1	63 %	22 %	60 %	29 %	85 %
Prévalence de la sous-population 2	80 %	86 %	100 %	36 %	32 %
Proportion de la sous-population 2	37 %	78 %	40 %	71 %	15 %
Valeur du Khi^2	93 %	99 %	99 %	100 %	100 %

On observe quatre grands niveaux de séroprévalence intracheptel :

- 0 à 6 % (sous-populations 1 des zones 4 et 5)
- 32 à 36 % (sous-populations 1 des zones 1 et 2, et sous-populations 2 des zones 4 et 5)
- 67 % à 86 % (sous-population 1 de la zone 3 et sous-populations 2 des zones 1 et 2)
- 100 % (sous-population 2 de la zone 3)

On relève la différence de structure entre les zones 2 et 3 malgré la similitude de leur niveau de séroprévalence. La zone 2 présenterait une faible proportion (22 %) de cheptels à prévalence moyenne (33 %) et une forte proportion (78 %) à prévalence forte (86 %), alors que la zone 3 présenterait une forte proportion (60 %) d'élevages à prévalence moyennement forte (67 %) et une moindre proportion (40 %) à

prévalence très forte (100 %). Ces éléments sont plus ou moins discernables sur la figure 4, où l'on observe des secteurs géographiques à plus faibles

densités de résultats positifs (cantons de Pierre de Bresse et Sennecey le Grand).

IV - DISCUSSION

1. SUR LA MÉTHODE

L'échantillonnage a été construit pour évaluer une prévalence bovine [Toma *et al.*, 2001]. Si la désignation des élevages analysés procédait d'un réel tirage au sort (non équiprobable), le choix des bovins était soumis à la quantité de sérum disponible à l'issue de la prophylaxie. De même, le laboratoire n'a pas appliqué de procédure aléatoire pour choisir les sérums, mais cette méthode n'introduit pas de biais identifiable par rapport à l'objectif de l'étude.

L'analyse des distributions intrachepitel par les méthodes proposées par Auvigne et Petit doit être relativisée car la désignation des cheptels n'est pas équiprobable, les plus gros étant surreprésentés du fait de leur pondération pour le tirage au sort. Par ailleurs, les deux méthodes proposées n'ont pas encore fait l'objet d'une validation théorique. Néanmoins, elles permettent de poser des hypothèses sur la distribution des prévalences intrachepitels. La méthode proposée par Auvigne (« modèle des centiles ») estime à partir de l'échantillon observé la proportion d'élevages pour chaque percentile de prévalence en imposant une autocorrélation plus ou moins élevée et fixée par l'opérateur entre chaque percentile, alors que la

méthode proposée par Petit (« modèle d'ajustement ascendant ») recherche le nombre minimal de sous-populations d'élevages ayant une prévalence intrachepitel commune capable de reproduire la distribution observée par le jeu de l'échantillonnage. La première méthode fournit donc un continuum apparent (en fait, il y a 101 classes) de prévalences intrachepitels alors que la seconde donne le nombre de classes le plus limité possible.

La figure 6 donne la distribution obtenue par la méthode « Auvigne » appliquée sur l'échantillon total de l'étude. On constate deux modes principaux très « évasés », l'un centré sur une prévalence quasi nulle et l'autre sur une prévalence quasi de 100 %. Ce schéma illustre sans doute assez bien la diversité des situations épidémiologiques intermédiaires en identifiant leur poids relatif.

Appliquée sur le même échantillon global, la méthode « Petit » identifie trois sous-populations de prévalences différentes (*cf.* tableau 3). Dans ces conditions, le modèle est saturé (autant d'équations que d'inconnues), et l'ajustement aux données observées est parfait.

Figure 6

Distribution des élevages en fonction de leur prévalence estimée par la méthode Auvigne

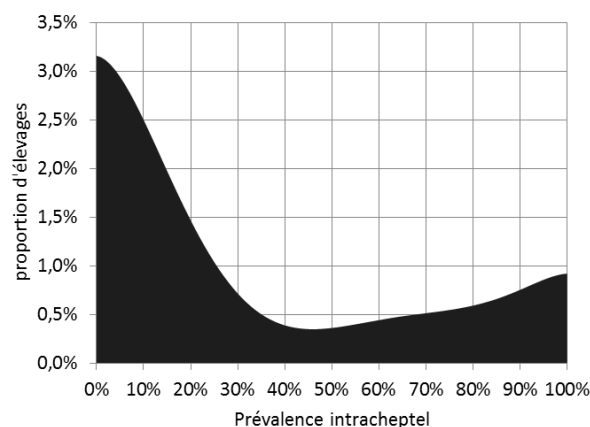


Tableau 3

Estimation des sous-populations de cheptels avec leur prévalence estimée sur l'échantillon global

	Valeur	Borne inférieure (95 %)	Borne supérieure (95 %)
<i>Prévalence de la sous-population 1</i>	7,7 %	5,5 %	9,8 %
Proportion de la sous-population 1	56,6 %	52,8 %	60,4 %
<i>Prévalence de la sous-population 2</i>	56,3 %	49,6 %	62,9 %
Proportion de la sous-population 2	30,8 %	26,9 %	34,8 %
<i>Prévalence de la sous-population 3</i>	97,5 %	93,1 %	100 %
Proportion de la sous-population 3	12,6 %	8,3 %	16,8 %

Pour estimer la proportion d'élevages indemnes, on peut imposer à ce modèle une classe à prévalence nulle et lui demander de déterminer les autres classes pour approcher au mieux la distribution observée. On obtient ainsi des résultats sensiblement différents pour les autres classes, mais on peut approcher la proportion d'élevages indemnes, qui serait de 30 % dans cette analyse. Le modèle n'est plus saturé, mais l'ajustement est de moins bonne qualité ($p\text{Khi}^2$ entre données observées et prédites = 0,27).

La figure 7 compare les deux méthodes sur l'échantillon total en représentant le pourcentage

cumulé des cheptels en fonction de leur prévalence. On observe le décalage des prévalences intracheptel estimées selon que l'on impose une sous-population indemne ou non.

Ces méthodes, imparfaites en termes de représentativité, permettent néanmoins de poser des hypothèses sur la distribution des prévalences intracheptels, tout en restant économes en termes d'analyses. Elles doivent donc être considérées comme des sous-produits de l'objectif initial et principal qui est la mesure d'une prévalence individuelle.

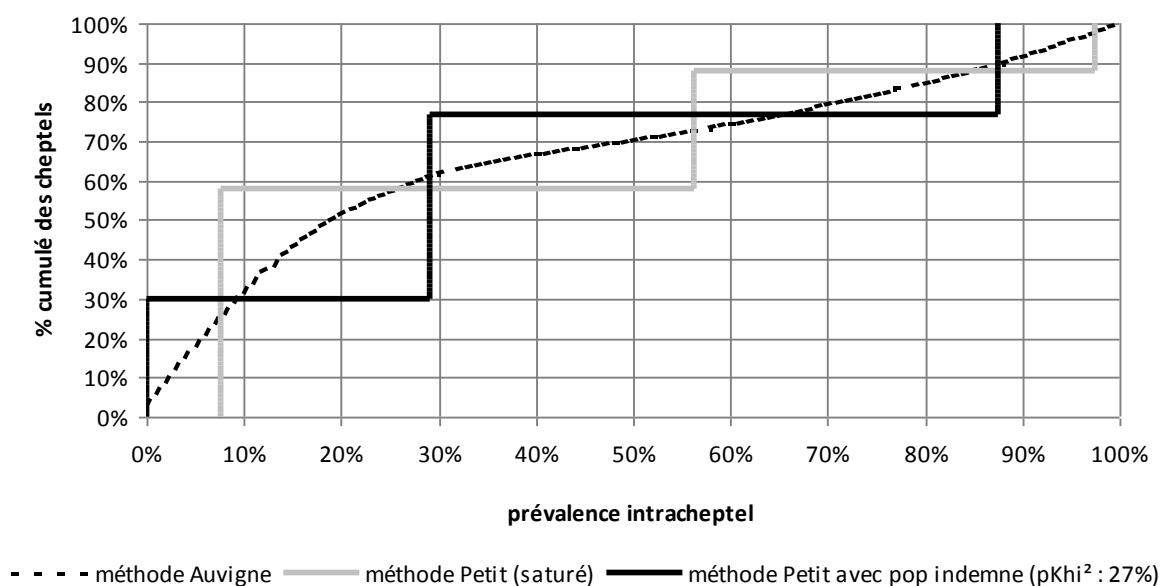
Tableau 4

Estimation des sous-populations de cheptels avec leur prévalence estimée sur l'échantillon global avec une sous-population indemne imposée

	Valeur	Borne inférieure (95 %)	Borne supérieure (95 %)
<i>Prévalence de la sous-population 1</i>	0,0 %		
Proportion de la sous-population 1	29,7 %	25,5 %	33,9 %
<i>Prévalence de la sous-population 2</i>	29,1 %	24,5 %	33,8 %
Proportion de la sous-population 2	47,0 %	42,1 %	51,8 %
<i>Prévalence de la sous-population 3</i>	87,4 %	83,1 %	91,8 %
Proportion de la sous-population 3	23,4 %	17,8 %	28,9 %

Figure 7

Comparaison des distributions cumulées des élevages en fonction de leur prévalence selon les méthodes Auvigne et Petit



2. SUR LES RÉSULTATS

La disparité géographique des cas cliniques déclarés sur le département se retrouve dans la disparité géographique observée sur les séroprévalences bovines.

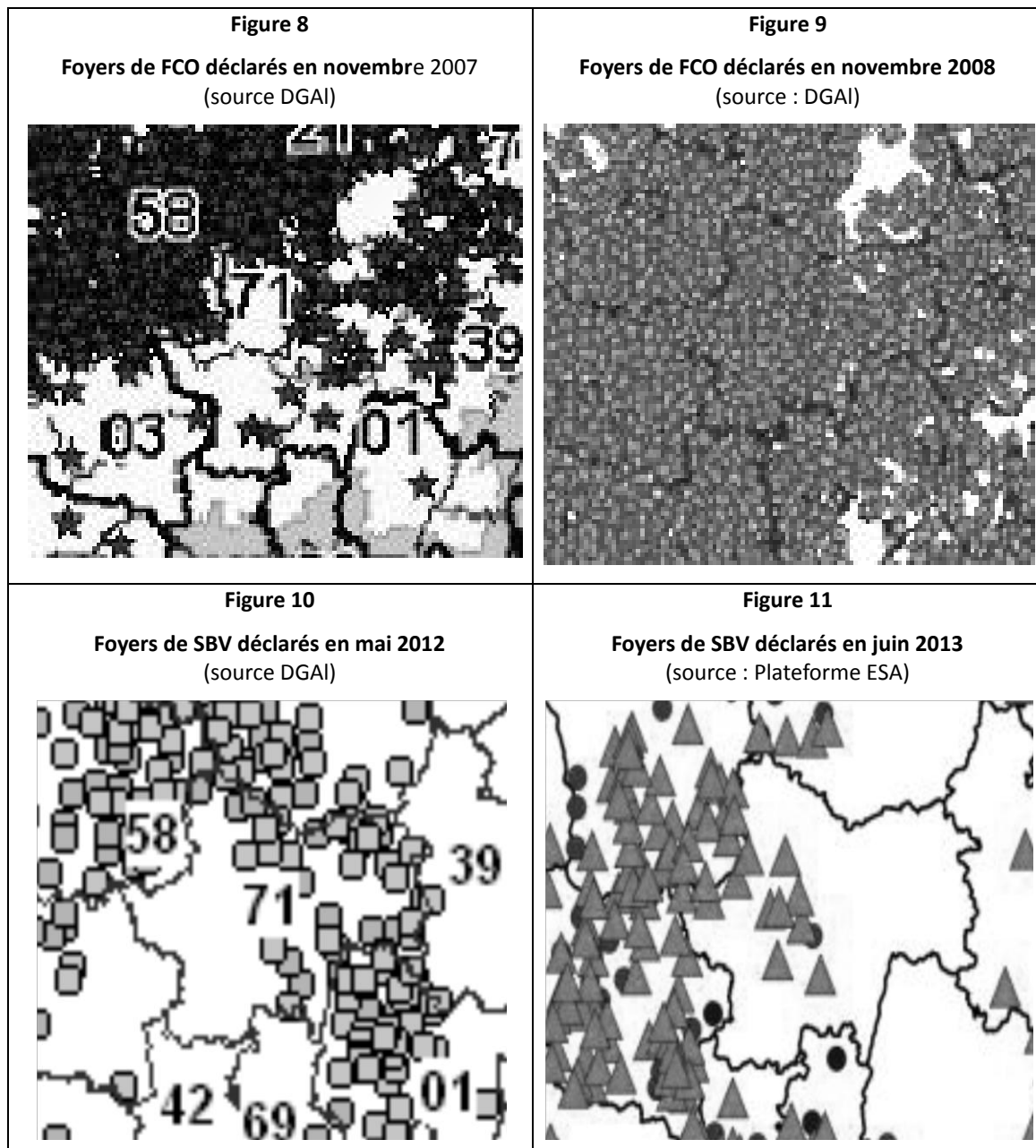
Sur les zones bien atteintes (zones 2 et 3), la séroprévalence bovine avoisine les 80 % et laisse augurer une bonne couverture immunitaire sur ces secteurs. Des exceptions peuvent néanmoins se rencontrer (sous-population 1 de la zone 2 à 33 % de séroprévalence).

Sur les zones médianes (zones 1 et 4), il est probable qu'un certain nombre d'élevages n'aient pas encore vu le virus (29 % en zone 4) et on peut s'interroger sur la protection des élevages situés à 30 % de séroprévalence.

Sur la zone inconnue (zone 5) la faible séroprévalence moyenne (10 %) plutôt uniformément répartie sur le territoire laisse à penser que le virus est globalement présent mais n'a pas eu le temps de se développer peut-être du fait de la diminution d'activité vectorielle hivernale. Avec ce niveau de séroprévalence, un défaut de

spécificité du réactif semble devoir être écarté car la spécificité du réactif a été estimée à 99 % [Bréard, 2012].

Cette distribution géographique des foyers déclarés et de la séroprévalence rappelle celle observée avec la FCO pendant l'hiver 2007-2008. L'automne 2007 avait vu des foyers apparaître sur le nord-est du département et dans la vallée de la Saône (cf. figure 8), mais le sud-ouest a dû attendre 2008 pour voir éclater le nombre de foyers (cf. figure 9). Les résultats des RT-PCR effectuées à l'automne-hiver 2007 sur les broutards destinés à l'export confirmaient l'absence d'infection dans le sud-ouest du département. Pour Schmallenberg, le même processus semble s'être reproduit (cf. figures 10 et 11), avec une incidence bien moindre pour les foyers déclarés de Schmallenberg. Cependant les résultats séropositifs disséminés observés dans cette étude semblent montrer que l'infection était déjà présente dans le sud-ouest du département dès l'automne 2012 mais à bas bruit, comme si le virus était à un stade de « précolonisation » de ce territoire.



L'observation de trois grandes classes de prévalence faite avec la méthode « d'ajustement ascendant » recoupe celle effectuée par le réseau national d'épidémiologie dans des enquêtes sérologiques menées en élevages situés dans des zones d'atteintes différentes : 0 foyer identifié sur le département, 1 à 20 foyers, plus de 20 foyers [Gache *et al.*, 2012]. La figure 12 illustre ce point en identifiant les trois principales classes de séroprévalences observées dans l'enquête du réseau national.

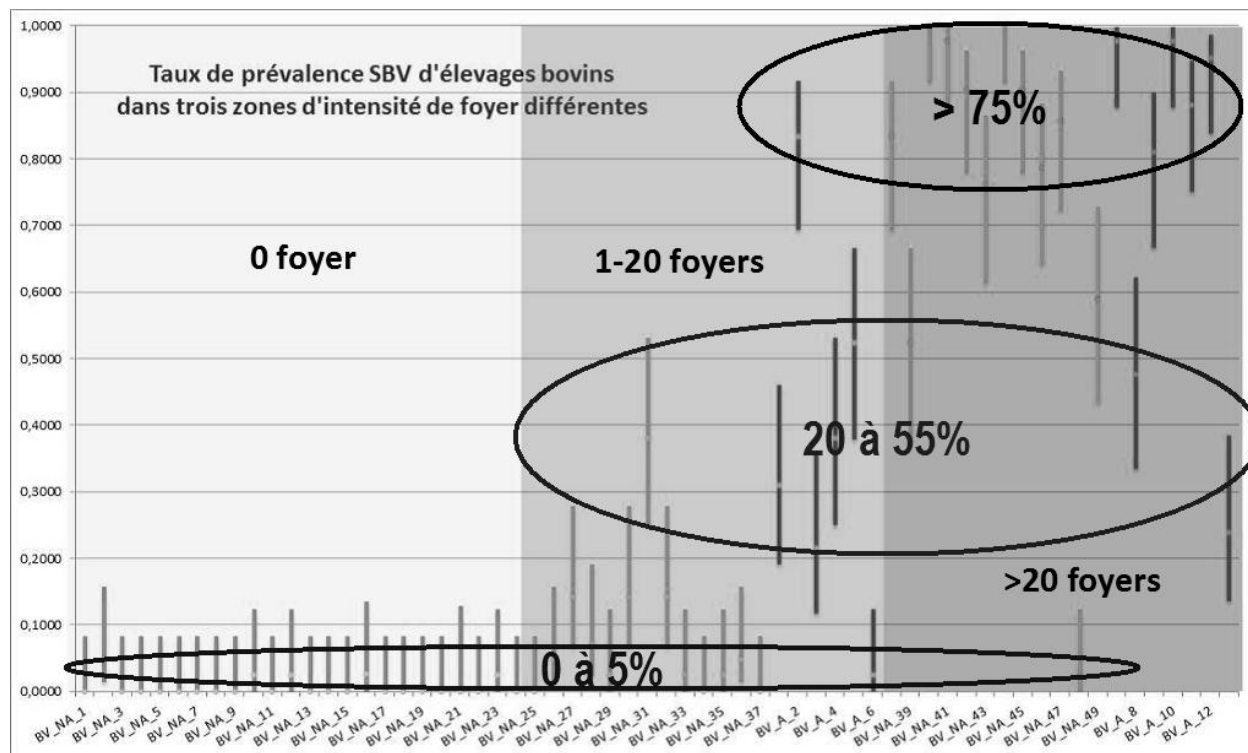
La période de prélèvement (essentiellement de décembre à mars) peut influencer le résultat. En effet, en décembre le pourcentage global de

résultats positifs est de 29 % contre 46 % en mars (et respectivement 33 et 34 % en janvier et février). En zone 5, l'évolution va de 6 % en décembre à 17 % en mars. Mais ces observations sont moins pertinentes dans les autres zones et concernent des petits effectifs pour les mois tardifs.

Il est difficile de faire une projection des résultats bovins sur la situation des petits ruminants, dont la séroprévalence semble moindre d'après d'autres enquêtes [Gache *et al.*, 2012]. Néanmoins la superposition géographique des cas cliniques bovins et ovins laisse à penser que leur situation épidémiologique est comparable.

Figure 12

Taux de séroprévalence SBV d'élevages bovins dans trois zones d'intensité de foyers différentes
(d'après Plateforme - ESA)



V - CONCLUSIONS

La séroprévalence observée pendant l'hiver 2012 en Saône-et-Loire reflète bien l'intensité des foyers déclarés sur ce département et confirme la colonisation progressive de ce territoire par le virus de la maladie de Schmallenberg.

Les principaux secteurs touchés sur le plan clinique en 2012 ont atteint une séroprévalence excédant 80 %, ce qui laisse espérer l'installation d'une immunité étendue dans ces secteurs.

L'observation de bovins séropositifs disséminés sur toute la zone sans foyer semble révéler une présence à bas bruit du virus avant son explosion et son expression clinique. Les mécanismes

épidémiologiques de ce processus mériteraient d'être élucidés.

Il est plus difficile de se prononcer sur la protection immunitaire pour les zones ou élevages à prévalence moyenne, et également pour les élevages ovins, dont la séroprévalence semble moindre que chez les bovins [Gache *et al.*, 2012].

La méthode utilisée pour mesurer une séroprévalence bovine permet d'être relativement économe en nombre d'analyses et permet de poser des hypothèses sur la distribution de la séroprévalence au sein des cheptels. Cette approche mériterait d'être consolidée.

BIBLIOGRAPHIE

Auvigne V., Petit E. - Estimation de la distribution des Taux d'Infection Intra Cheptel à partir des résultats d'un sondage - Proposition et comparaison de deux méthodes. *Épidémiol. et santé anim.*, 2010, **58**, 83-93.

Bréard E. - Virus Schmallenberg : Validation d'un kit ELISA. *Plateforme ESA*, 2012, http://www.pplateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=94:virus-schmallenberg-validation-dun-kit-elisa-&catid=84:actualitessbv&Itemid=218

EFSA (European Food Safety Authority) - "Schmallenberg" virus: Analysis of the

Epidemiological Data and Assessment of Impact, *EFSA Journal*, 2012, <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/2768.pdf>

Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénét J-J., Shaw A., Moutou F., Louza A. - Épidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies transmissibles majeures. 2 éd., AEEMA Eds, Maisons-Alfort, 2001, 690 p.

Gache K., Dominguez M., Touratier A., Hendrikx P. - Virus Schmallenberg (SBV) : Résultats d'enquêtes sérologiques. *Plateforme ESA*, 2012, http://www.pplateforme-esa.fr/images/documents/Resultats_serologies_SBV.pdf

