



Maisons-Alfort, le 30 juin 2010

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une réévaluation du niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra dans l'Aveyron

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le jeudi 1^{er} avril 2010 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis relatif à une réévaluation du niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra (trypanosomose à *Trypanosoma evansi*) dans l'Aveyron.

CONTEXTE

- **En juin 2006**, un éleveur aveyronnais de brebis Lacaune (ferme de La Blaquièrre), détenant huit dromadaires utilisés pour des activités récréatives, a reçu cinq nouveaux dromadaires originaires des Iles Canaries (Espagne). Cet archipel a connu des épisodes de Surra chez le dromadaire, enregistrés en 1997-1999, 2002 et 2006 (les deux premiers épisodes ont fait l'objet de publication en 2000 et 2005).

- **En octobre 2006**, l'un des cinq dromadaires originaires des Canaries est mort après avoir présenté pendant dix jours des signes cliniques non spécifiques (faiblesse, inappétence...). Les tests effectués par le CIRAD indiquèrent la présence de trypanosomes de l'espèce *T. evansi* dans le sang de cet animal. Les investigations menées sur les douze autres dromadaires détenus dans cette ferme ont permis d'identifier **cinq animaux infectés** : deux chamelles adultes et le chamelon de l'une d'entre elles (Malika, Isa et Malice), présents dans l'élevage avant juin 2006, et deux autres dromadaires issus du lot importé des Iles Canaries (Paco et Garetta).

Ces cinq dromadaires ont été traités par la mélsarsomine (CymelarsanND ; 0,25 mg/kg par voie intramusculaire profonde) entre le 27 et le 30 octobre. Tous les dromadaires ont subi ce même traitement le 10 novembre 2006, puis ont été traités le 1^{er} décembre 2006 par l'association de méthylsulfate et de chlorure de quinapyramine (TriquinND ; 3,75 mg/kg par voie intramusculaire profonde), après estimation de leur poids.

- L'Afssa, a été saisie en urgence en novembre 2006 par la DGAI sur un plan d'action d'éradication et de lutte contre la diffusion de *T. evansi*, et sur le risque de contamination humaine à partir de ce foyer. L'avis rendu (n°2006-SA-0321 du 8 décembre 2006) préconisait, pour les dromadaires, de recourir à un « *protocole garantissant aux 12 dromadaires un traitement alternant deux trypanocides (3 traitements au total) de nature chimique et de mode d'action différents, de façon à avoir les meilleures chances de stériliser les animaux* », avec un contrôle d'efficacité par suivi parasitologique et sérologique pendant au moins dix-huit mois et en cas de reviviscence du parasite après traitement, un abattage total.

- Le traitement trypanocide a été poursuivi sur l'ensemble des dromadaires par administration de mélsarsomine (à la dose de 0,25 mg/kg) le 17 janvier 2007 (total de trois à cinq traitements administrés, selon les dromadaires). Des tests sérologiques et parasitologiques

mensuels ont été réalisés par le CIRAD. Les résultats de l'ensemble des tests de diagnostic sont devenus progressivement négatifs au cours de l'hiver 2006-2007.

- **Le suivi du 30 août 2007** a révélé que l'un des six dromadaires trouvés infectés en 2006 (Paco), et ayant reçu quatre traitements trypanocides au moyen de deux molécules différentes, **présentait de nouveau une parasitémie** et donnait des réponses positives aux autres tests diagnostiques. La même série de tests réalisée sur les onze autres dromadaires a donné des résultats négatifs. Tous les dromadaires de l'exploitation ont subi de nouveaux traitements : quinapyramine le 30 août 2007 (3,75 mg/kg), mélarsomine le 15 octobre 2007 (0,5 mg/kg) après détermination de leurs poids par pesée début septembre.

- En septembre 2007, l'Afssa a été saisie par la DGAI d'une demande d'avis sur un projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 22 décembre 2006 relatif aux mesures de lutte contre le Surra et permettant au préfet, sur instruction du ministre chargé de l'agriculture, d'ordonner le traitement et/ou l'abattage et la destruction des animaux domestiques d'espèces réceptives contaminés. L'avis 2007-SA-0313, rendu par l'Afssa le 26 octobre 2007, proposait pour les animaux infectés¹ : « **l'abattage rapide et la destruction des cadavres** » ; le traitement de ces animaux à l'aide d'un médicament trypanocide n'étant envisagé « *que dans l'attente de leur abattage lorsque la mise en œuvre de ce dernier nécessite un délai* ».

Un arrêté ministériel paru au JORF le 28 novembre 2007 a repris intégralement les recommandations faites par l'Afssa dans l'avis 2007-SA-0313 sur la définition et le devenir des animaux infectés. Sur la base de cet arrêté et d'une instruction en date du 12 décembre 2007, la DGAI a demandé à la Direction départementale des services vétérinaires de l'Aveyron de diligenter l'abattage des cinq dromadaires infectés de la ferme de l'Aveyron. Cette opération n'a pas été réalisée, l'éleveur contestant la décision d'abattage. Un suivi parasitologique et sérologique a été effectué pour tous les dromadaires, sur un rythme en général mensuel, jusqu'à ce jour.

- L'avis de l'Afssa 2008-SA-0081 du 30 avril 2008, portant sur l'efficacité du traitement par la mélarsomine chez des animaux infectés de Surra, réitérait la recommandation d' « *abattage rapide de tout animal infecté par T. evansi, notamment les dromadaires infectés de l'élevage de la Blaquièrre* », en précisant que « *la conservation d'animaux qui pourraient présenter dans un futur plus ou moins proche une nouvelle parasitémie (...) [constitue] un risque réel et préoccupant, aux conséquences lourdes* ».

- Le 1^{er} avril 2010, la DGAI a transmis une nouvelle saisine à l'Afssa, dans laquelle il est indiqué :

« *Les dromadaires ont été régulièrement suivis depuis 2006. Depuis août 2007, aucun des tests sanguins régulièrement pratiqués n'a détecté la présence du parasite.*

Le vétérinaire de l'élevage et un expert de l'OIE affirment que l'abattage des dromadaires ne serait pas justifié. Pour cela, ils arguent du fait que :

- *la rechute de Paco en 2007 serait liée à un sous-dosage du traitement trypanocide effectué en 2006 ;*
- *le traitement trypanocide correctement dosé en 2007 serait assainissant et franchirait la barrière hémato-méningée ;*
- *l'absence de tests défavorables depuis plus de deux ans confirmerait la guérison totale des dromadaires. »*

Les questions posées à l'Afssa sont les suivantes :

- « *Les arguments techniques et scientifiques avancés par le vétérinaire de l'exploitation et par l'expert de l'OIE sont-ils de nature à réévaluer le niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra à partir des cinq dromadaires à abattre ? » ;*
- « *Dans l'affirmative, le risque évalué est-il désormais à un niveau tel qu'il ne justifie plus la mesure d'abattage de tout ou partie des cinq dromadaires concernés ? ».*

¹ « *On entend par animal infecté, tout animal d'espèce réceptive chez lequel T. evansi a été mis en évidence par une méthode parasitologique appropriée dans le sang ou tout autre tissu* » (avis 2007-SA-0313)

METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le groupe d'expertise collective d'urgence « Surra – 2010 » (Gecu Surra) réuni le 17 mai 2010 à l'Afssa et par voie télématique.

A la suite de cette réunion, la coordination scientifique du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » a élaboré un projet d'avis qui a été étudié par les membres du Gecu « Surra - 2010 » par moyens télématiques et validé le 25 juin 2010 après présentation au CES SA le 2 juin et consultation du CES SA le 23 juin 2010.

L'expertise a été conduite sur la base :

- de la lettre de saisine en date du 1^{er} avril 2010 ;
- des documents attachés à la saisine :
 - synthèse des résultats des séries de tests sur les dromadaires de 2006, 2007, 2008, 2009 et 2010 ;
 - courrier adressé par le vétérinaire de l'élevage de La Blaquièrre et un membre de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers (Institute of tropical medicine : ITM) à Mme la Préfète de l'Aveyron, en date du 25 mars 2010, relatif au foyer à *T. evansi* détecté en octobre 2006 à la ferme de La Blaquièrre ;
- des documents complémentaires adressés par la DGAI à l'Afssa le 9 avril 2010 : courrier du vétérinaire de l'élevage comportant :
 - les résultats d'analyses sérologiques réalisées par l'ITM sur des dromadaires en 2008 (CATT test) et 2009 (immunotrypanolyse) ;
 - les résultats du test d'immunotrypanolyse réalisé avec les sérums des ovins de La Blaquièrre, à l'ITM en 2007 ;
 - la liste des articles scientifiques sur lesquels s'appuie le document cosigné par le vétérinaire de l'élevage et le scientifique de l'ITM ;
- de l'arrêté du 20 novembre 2007 relatif aux mesures de lutte contre *Trypanosoma evansi* ou Surra ;
- des avis de l'Afssa portant sur le foyer de Surra en Aveyron :
 - avis 2006-SA-0321 du 8 décembre 2006 sur un plan d'action d'éradication et de lutte contre la diffusion de *Trypanosoma evansi* en raison d'un foyer de Surra détecté en Aveyron et sur le risque de contamination humaine à partir de ce foyer ;
 - avis 2007-SA-0172 du 6 juillet 2007 relatif à la réévaluation du plan d'action contre *Trypanosoma evansi* ;
 - avis 2007-SA-0313 du 26 octobre 2007 sur un projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 22 décembre 2006 relatif aux mesures de lutte contre le Surra ;
 - avis 2008-SA-0081 du 30 avril 2008 sur l'efficacité d'un traitement trypanocide sur des dromadaires infectés par *Trypanosoma evansi* ;
- de l'audition, par le Gecu Surra, d'un scientifique de l'ITM, expert pour l'OIE, par voie télématique au cours de la réunion du 17 mai 2010 ;
- des informations transmises par voie télématique par le vétérinaire de l'exploitation, concernant le suivi clinique et les traitements trypanocides mis en œuvre chez les dromadaires.

ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Groupe d'expertise collective d'urgence « Surra - 2010 » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

« ❖ **Question 1 : « Les arguments techniques et scientifiques avancés par le vétérinaire de l'exploitation et par l'expert de l'OIE sont-ils de nature à réévaluer le niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra à partir des cinq dromadaires à abattre ? »**

a) « La rechute de Paco en 2007 serait liée à un sous-dosage du traitement trypanocide effectué en 2006 »

Le dromadaire Paco, chez lequel T. evansi a été mis en évidence en octobre 2006 puis en août 2007, avait présenté des résultats négatifs aux différentes analyses menées entre janvier et juillet 2007 par le CIRAD.

➤ *La principale hypothèse avancée pour expliquer la rechute de Paco en août 2007 est la persistance du trypanosome dans des sites extravasculaires après traitement. T. evansi appartient en effet à un groupe de trypanosomes (Trypanozoon, qui comprend aussi les agents de la maladie du sommeil) ayant la capacité, après la phase aiguë parasitémique, de quitter le torrent circulatoire et d'envahir d'autres organes, notamment le système nerveux central (Giroud et al. 2009). Ce phénomène peut être responsable d'une inefficacité partielle d'un traitement trypanocide, notamment si ce traitement n'entraîne pas d'emblée, pendant la phase précoce de l'infection, l'élimination de tous les parasites présents dans le sang (cas de sous-dosage du produit ou de chimiorésistance de la souche), ou si, dans le cas d'un traitement en phase chronique, le produit trypanocide ne traverse pas la barrière hémato-méningée.*

Il apparaît que les traitements initiaux effectués chez Paco peuvent correspondre à cette situation, pour deux raisons :

- *le poids de ce dromadaire a été estimé à 250 kg en octobre 2006, puis établi à 420 kg en octobre 2007. Bien qu'une partie de cette différence puisse être attribuée à une prise de poids réelle, une sous-estimation initiale (de l'ordre de 150 kg) est très probable. La dose de mélarsomine effectivement reçue par Paco en 2006 et en janvier 2007 serait ainsi de l'ordre de 0,15 mg/kg. La sous-estimation du poids de Paco a d'ailleurs été reproduite en décembre 2006 lors du traitement par la quinapyramine.*
- *Par ailleurs, l'administration de mélarsomine à une dose de 0,25 mg/kg, dose minimale recommandée par le fabricant, n'a pas donné à cette intervention les meilleures chances de stériliser l'infection de l'animal. Si la dose de 0,25 mg/kg est la dose minimale recommandée par le fabricant, l'efficacité du produit à cette dose chez le dromadaire n'a été démontrée que par un suivi d'une durée de 95 jours au maximum (Tager-Kagan et al. 1989, Van Gool et al. 1989, Musa et al. 1994). Des récurrences ont été observées dans d'autres espèces à cette même dose (Lun et al. 1991, Payne et al. 1994, Gutierrez et al. 2008). La probabilité de telles récurrences augmente avec la durée d'évolution de l'infection avant le traitement, or Paco était probablement porteur en 2006 d'une infection chronique, dont l'ancienneté n'était pas connue.*

Compte tenu de ces éléments, et du caractère indemne de la France vis-à-vis de cet agent pathogène exotique, il aurait été avisé de rendre minimal le risque de récurrence en utilisant une dose de 0,5 mg/kg, voire 1 mg/kg car ces doses sont tolérées par le dromadaire (Tager Kagan et al. 1989).

➤ *L'hypothèse d'une chimiorésistance de la souche de T. evansi en cause ne peut être totalement exclue. Paco fait partie des animaux importés des îles Canaries en 2006 ; il est possible qu'il ait reçu un (des) traitement(s) trypanocide(s) avant son arrivée en France. L'hypothèse d'une chimiorésistance est cependant assez peu probable, car les quatre autres*

dromadaires traités, qui étaient infectés probablement par la même souche de *T. evansi*, n'ont pas présenté de récurrence (notamment Malice, dont le poids semble avoir été sous-estimé également et qui a probablement reçu des traitements trypanocides sous-dosés entre octobre 2006 et janvier 2007). Une évaluation de la sensibilité de la souche aveyronnaise aux trypanocides aurait permis de clarifier ce point.

b) « Le traitement trypanocide correctement dosé en 2007 serait assainissant et franchirait la barrière hémato-méningée »

Les modalités de traitement de Paco (et des autres dromadaires de la ferme de La Blaquière) qui ont été adoptées en 2007 sont satisfaisantes. Les dromadaires ont été pesés avant ce traitement. Deux trypanocides, la quinapyramine (le 30 août), puis la mélsarsomine à la dose de 0,5 mg/kg (le 15 octobre) ont été utilisés. Le premier ne traverse pas la barrière hémato-méningée. La capacité de la mélsarsomine à franchir la barrière hémato-méningée est plus mal connue. Cette propriété a été démontrée pour le mélsarsoprol, autre molécule de la famille des arsenicaux utilisée chez l'homme pour le traitement des stades nerveux de la maladie du sommeil (cf. revue de Pépin et Milord, 1994). A la différence du mélsarsoprol, la mélsarsomine est soluble dans l'eau et, peu lipophile, elle franchirait moins bien la barrière hémato-méningée (Jennings et al. 1996).

Le Gecu rappelle également que l'efficacité à long terme de la mélsarsomine est mal connue, les diverses études publiées à ce jour ne permettant pas de mettre en évidence d'éventuelles récurrences tardives (survenant plus de 95 jours après le traitement). Il ne peut être totalement exclu que le premier traitement de Paco à faible dose (non curative) par la mélsarsomine en 2006, ait sélectionné et favorisé l'émergence de génotypes plus résistants éventuellement présents dans la souche d'origine, qui auraient persisté pendant plusieurs mois dans les organes profonds, et se seraient montrés résistants lors du traitement ultérieur à la dose de 0,5 mg/kg. Les sous-dosages thérapeutiques répétés sont connus pour être responsables du développement et de l'expression de chimiorésistances dans les populations de trypanosomes.

Il apparaît au vu de ces éléments, que les traitements d'août et octobre 2007 ont probablement permis l'élimination des trypanosomes encore présents chez Paco, voire chez d'autres dromadaires du troupeau, mais on ne peut le garantir.

c) « L'absence de tests défavorables depuis plus de deux ans confirmerait la guérison totale »

A la suite de ces traitements, un suivi parasitologique et sérologique a été effectué sur un rythme en général mensuel, sur 12 puis 11 dromadaires (l'un des dromadaires étant mort le 25 février 2008 des suites d'une fracture de l'humérus droit survenue lors d'un accident à la descente d'un camion). Ces analyses, réalisées à partir de prélèvements sanguins, comprenaient la recherche du parasite par examen direct, PCR, CATT, ELISA sur antigène total, et pour certains prélèvements, un test de trypanolyse. Elles ont été menées principalement par le CIRAD (PCR, ELISA, CATT). L'Institut de médecine tropicale d'Anvers (IMT, laboratoire OIE) a également réalisé des tests sur les cinq dromadaires précédemment infectés, en mai 2008 (CATT et trypanolyse) et en mai 2009 (CATT et PCR), qui se sont avérés négatifs, alors que ces mêmes tests avaient confirmé la rechute de Paco en août 2007.

La PCR est le test le plus sensible pour détecter une infection active. Elle permet de détecter de très faibles quantités d'ADN (jusqu'à 10^{-6} ng d'ADN de trypanosomes purifiés, Fernandez et al. 2009). Effectuée de manière répétée, elle peut mettre en évidence l'acide nucléique libéré par la lyse des trypanosomes présents de façon intermittente dans le sang au cours des phases chroniques de l'infection. Pour la détection de *T. evansi*, l'ITM réalise simultanément trois PCR qui utilisent des amorces ciblant des gènes différents, ce qui devrait assurer une sensibilité optimale de la technique.

La synthèse présentée en annexe de la saisine indique des résultats constamment négatifs pour 19 séries d'analyses mensuelles conduites entre mars 2008 et février 2010.

En conclusion des points b) et c), les modalités des traitements trypanocides réalisés en 2007, et surtout la répétition des résultats négatifs lors du suivi de 2 ans ½ consécutif au traitement, conduisent à penser que l'élimination totale et définitive des trypanosomes des dromadaires du foyer a très probablement été réalisée. On ne peut cependant l'affirmer avec une totale certitude.

d) Eventualité d'une contamination des animaux d'autres espèces que les dromadaires

➤ Brebis de l'élevage de La Blaquièrre

Un protocole expérimental a été mis en place à l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse (ENVT) afin de mettre en évidence un éventuel portage latent de *T. evansi* chez douze brebis suspectes provenant de l'élevage de La Blaquièrre (Jacquet 2007). Ces brebis avaient présenté des résultats positifs en sérologie et/ou en PCR.

Une éventuelle parasitémie a été recherchée pendant 90 jours (d'avril à juillet 2007), avant et après immunodépression par des corticoïdes et après splénectomie. La recherche directe du parasite a été réalisée sur des prélèvements d'organes post-mortem.

Les méthodes analytiques mises en place étaient : recherche directe de parasites dans le sang, PCR sur sang, étude de prélèvements de liquide céphalorachidien (LCR) et de lymphoganglionnaire (examen direct et inoculation intrapéritonéale de LCR à la souris), ELISA, examen histologique.

Au terme de cette étude (15 octobre 2007) :

- la présence de trypanosomes circulants chez les brebis de La Blaquièrre n'a pas pu être mise en évidence ;
- la persistance d'anticorps chez certaines brebis pendant plus de 6 mois suggère qu'une stimulation antigénique pourrait avoir persisté, mais le délai entre l'élimination d'une infection à *T. evansi* et la séronégativité (avec les tests utilisés) n'est pas connu chez le mouton ;
- le statut de réservoir de *T. evansi* de ces brebis paraît peu vraisemblable.

A partir de ces résultats, le vétérinaire de l'élevage et le scientifique de l'ITM, expert pour l'OIE, ont conclu à « l'absence de mise en évidence de l'infection des brebis par l'expérimentation faite à l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse ».

➤ Autres animaux d'espèces réceptives et sensibles

Dans l'avis 2006-SA-0321, l'Afssa avait recommandé des mesures de surveillance sur :

- les carnivores domestiques ;
- les rongeurs ;
- les animaux d'espèces sensibles du voisinage de l'exploitation ;
- la faune sauvage (en cas de confirmation de la présence de *T. evansi* chez les animaux du voisinage) ;
- les animaux d'élevage ayant pu être en contact avec les dromadaires de La Blaquièrre.

Des enquêtes ont été menées sur le terrain chez ces différentes populations. Elles ont mis en évidence des résultats positifs en sérologie et en PCR chez des brebis des exploitations voisines, et en sérologie chez des équidés ayant eu d'éventuels contacts avec les dromadaires. Toutefois, *T. evansi* n'a jamais été observé et/ou isolé dans ces animaux.

A l'égard des rongeurs sauvages, dont le Gecu Surra avait recommandé le piégeage (avis de l'Afssa 2006-SA-0321), des mesures de dératisation ont été mises en œuvre mais aucun rongeur n'a été piégé sur l'exploitation, ni donc testé.

Les prélèvements effectués le 30 janvier 2007 sur l'unique chien de l'exploitation ont fourni une réponse négative en PCR et sérologie.

L'absence de mise en évidence de l'infection chez d'autres espèces réceptives est de nature à minorer le niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra à partir des dromadaires de La Blaquièrre.

En résumé, en réponse à la question 1 de la saisine, le Gecu ne peut conclure avec certitude à l'élimination définitive de *T. evansi* chez les dromadaires reconnus infectés en 2006 et 2007. Cependant, compte tenu :

- du traitement trypanocide administré à Paco et ses congénères en août et octobre 2007 (dont mélarosmine à la dose de 0,5 mg/kg) avec adéquation de la dose injectée au poids réel des dromadaires ;
- des résultats constamment négatifs obtenus pour les différentes analyses conduites depuis environ deux ans pour Paco et depuis trois ans pour les autres dromadaires (même s'il a pu être constaté sur Paco des résultats entièrement négatifs pendant six mois avant la rechute) ;
- de l'absence de mise en évidence d'une infection active chez d'autres espèces réceptives, susceptibles d'avoir été contaminées à partir des dromadaires infectés ;

le Gecu considère que la probabilité qu'il subsiste des dromadaires infectés à La Blaquièrre est plus faible qu'en 2008, et que par conséquent, le niveau de risque de résurgence d'un foyer de surra à partir des dromadaires de La Blaquièrre peut être considéré comme plus faible à beaucoup plus faible par rapport au niveau de risque d'avril 2008.

❖ **Question 2 : « Dans l'affirmative, le risque évalué est-il désormais à un niveau tel qu'il ne justifie plus la mesure d'abattage de tout ou partie des cinq dromadaires concernés ? »**

Le Gecu a considéré plusieurs modalités de gestion possibles ; le choix de l'une de ces modalités dépend du niveau de risque de résurgence accepté par le gestionnaire. Par ordre croissant de niveau de risque, peuvent être distinguées les options suivantes :

- a) abattage des dromadaires ayant été infectés par *T. evansi* ;
- b) conservation des dromadaires avec prolongation du suivi.

a) Abattage des dromadaires chez lesquels une infection par *T. evansi* a été mise en évidence

Compte tenu de l'incertitude pouvant persister sur la stérilisation de l'infection des dromadaires, **si le gestionnaire souhaite garantir l'absence totale de risque de résurgence de Surra, à partir des dromadaires de La Blaquièrre, l'abattage des cinq dromadaires ayant été reconnus infectés est à retenir.**

Cette mesure était recommandée par l'Afssa en octobre 2007 et avril 2008, soit quelques mois après la nouvelle détection de *T. evansi* chez Paco, notamment dans l'avis 2008-SA-0081 qui indiquait :

« Considérant :

- i. qu'aucune publication ne permet à ce jour de garantir l'élimination de façon définitive et donc l'absence de rechute, par quelque traitement que ce soit, y compris le CymelarsanND, à quelque dose que ce soit, de *T. evansi* chez les animaux infectés, notamment les dromadaires ;
- ii. que la possibilité que l'infection par *T. evansi* se pérennise chez des animaux maintenus sur le territoire national, où des arthropodes vecteurs du Surra existent, constitue un risque réel et préoccupant de maintien en France de cette maladie exotique transmissible à de nombreuses espèces, dont le cheval chez lequel elle est à déclaration obligatoire (MARC) ;

iii. que cette situation ne s'inscrit pas dans un cadre de suivi expérimental, mais dans celui de la préservation du statut sanitaire de la France contre cette maladie encore exotique, le Gecu « Surra » réaffirme les recommandations présentées dans les avis précédents et recommande l'abattage de tout animal infecté par *T. evansi*. »

Cette option est celle qui a été retenue par le ministre chargé de l'Agriculture (mais non appliquée) dans l'arrêté du 20 novembre 2007 relatif aux mesures de lutte contre Trypanosoma evansi ou Surra :

« En cas de détection d'un animal infecté de Surra, le préfet prend par arrêté préfectoral les mesures suivantes :

- pour les animaux infectés : l'abattage rapide et la destruction des cadavres. Le traitement de ces animaux par trypanocide ne pourra être réalisé que dans l'attente de leur abattage, lorsque la mise en œuvre de ce dernier nécessite un délai » (art. 3).

Entre avril 2008 et mai 2010, un élément majeur a évolué : la durée d'obtention de résultats négatifs aux analyses menées chez les dromadaires. En effet, la recommandation d'abattage avait été faite en avril 2008, après seulement un mois d'obtention de résultats négatifs. En mai 2010, aucun résultat positif n'a été observé depuis environ deux ans pour Paco (trois ans pour les autres dromadaires), ce qui permet de considérer le niveau du risque de résurgence comme plus faible à beaucoup plus faible par rapport à avril 2008.

Si l'abattage des cinq dromadaires ayant été reconnus infectés était réalisé, leur propriétaire pourrait envisager de les remplacer en acquérant de nouveaux individus. Or, il n'existe toujours pas de contrôles des camélidés à l'importation (malgré les recommandations émises dans les avis précédents de l'Afssa). Ainsi, une nouvelle importation de dromadaires depuis une zone géographique où le Surra est enzootique, reviendrait probablement à introduire des animaux dont l'état sanitaire serait moins bien connu que celui des dromadaires de La Blaquièrre, et à partir desquels le risque d'apparition d'un foyer serait potentiellement plus élevé.

b) Prolongation du suivi des dromadaires

Une autre option (associée à un niveau de risque supérieur par rapport à l'option précédente) serait de continuer le suivi des dromadaires pendant une durée suffisante pour permettre d'éliminer l'hypothèse d'une infection persistante chez Paco ou chez un autre dromadaire du troupeau.

La durée écoulée depuis la dernière parasitémie, sans qu'aucun signe d'infection n'ait pu être mis en évidence, va déterminer la réduction du niveau de risque associé à ce foyer. Plus cette durée augmente, plus la probabilité que les animaux aient effectivement éliminé leurs parasites augmente.

*Le Gecu recommande, dans le cadre de cette option de gestion, qu'un **suivi des dromadaires soit réalisé pendant une période supplémentaire de deux ans au minimum (2010 - 2011).***

1. Ce suivi consisterait, a minima, à réaliser des analyses sur des prélèvements sanguins issus de tous les dromadaires de la Blaquièrre :

- **examens parasitologiques**, à savoir examen direct et PCR. Pour cette dernière, trois couples d'amorces devraient être utilisées afin de garantir une sensibilité optimale. Des études récentes ont confirmé l'intérêt à cet égard des cibles TBR (Fernandez et al. 2009, Pruvot et al. 2010), RNA18S (Gari et al. 2010) et RoTat 1.2, (Gari et al. 2010) ;
- **analyses sérologiques**, à savoir ELISA et CATT/*T. evansi* ;

L'intérêt de tester tous les dromadaires, et non pas uniquement les cinq dromadaires ayant été infectés, résiderait dans le fait que les six dromadaires immunologiquement naïfs pourraient jouer le rôle de « sentinelles » et, en développant une infection aiguë, révéler une infection persistante qui serait passée inaperçue chez un de leurs congénères. Les dromadaires

anciennement infectés possèdent très probablement une immunité partielle vis-à-vis de la souche de *T. evansi* et, par conséquent, la réactivation d'une infection qui serait restée cryptique depuis 2006-2007 pourrait n'entraîner qu'une parasitémie transitoire, pouvant passer inaperçue du fait de la périodicité des analyses prévues. Un seul pic de parasitémie survenant en saison d'activité vectorielle constituerait néanmoins une source d'infection pour les autres dromadaires. Chez ces derniers, qui sont immunologiquement naïfs, une infection éventuelle évoluerait sur un mode aigu et serait donc plus facile à détecter (présence de signes cliniques et examens parasitologiques positifs).

Ces analyses devraient être réalisées deux fois par an, de préférence pendant la période d'activité vectorielle, par exemple en juillet et en septembre-octobre. Pendant cette période, il serait en effet essentiel de diagnostiquer toute infection le plus rapidement possible, afin de prévenir sa propagation à d'autres animaux par des insectes vecteurs. Par ailleurs, cette période est aussi celle qui permettrait aux animaux naïfs sentinelles (cf. ci-dessus) d'être infectés par transmission mécanique à partir d'animaux anciennement infectés.

Les modalités de suivi indiquées ci-dessus constituent le suivi minimal strictement indispensable dans le cadre de cette option de gestion.

2. Afin d'accroître la probabilité de détection d'une éventuelle infection des dromadaires par *T. evansi*, **d'autres examens pourraient être réalisés en complément** des analyses citées ci-dessus :

- **inoculation** de chaque échantillon de sang issu des cinq dromadaires précédemment infectés à des (trois) **souris** de sensibilité maximale (de façon optimale, des souris immunodéficientes de type SCID ou NOG ou, à défaut, des souris immunodéprimées par irradiation ou traitement chimique). Ce test présente une très grande sensibilité, un seul trypanosome viable étant capable de déterminer une infection chez un animal réceptif ;
- réalisation des analyses parasitologiques (examen direct, PCR, inoculation aux souris) et sérologiques (ELISA, CATT) sur des prélèvements de **liquide céphalo-rachidien (LCR)**. Ces prélèvements seraient à effectuer de préférence chez les cinq dromadaires ayant été infectés en 2006-2007, ou a minima chez Paco.

En phase chronique, la probabilité de présence des trypanosomes du groupe Trypanozoon dans le LCR est plus élevée que dans le sang. L'examen du LCR est d'ailleurs couramment réalisé chez l'homme pour le diagnostic et le suivi de la maladie du sommeil.

La ponction de LCR chez le dromadaire est réalisable sous tranquillisation par la voie sous-occipitale (Clausen 1986, Clausen et al. 1992) (cf. annexe 1). La faisabilité technique de ce prélèvement dans les conditions du terrain déterminera le nombre d'animaux qui pourraient en faire l'objet.

Quelle que soit la modalité choisie, un bilan et une ré-évaluation du risque devraient être réalisés à l'issue des deux années de suivi complémentaire. Si l'ensemble des résultats était toujours négatif, il serait mis fin au suivi.

Un expert a adopté une approche légèrement différente de celle proposée par l'ensemble des autres membres du Gecu et exposée ci-dessus. Il a suggéré que soit réalisée d'emblée et dans les meilleurs délais une ponction du LCR sur les cinq dromadaires précédemment infectés. Si l'analyse des LCR, à la fois parasitologique, sérologique et par inoculation à des souris immunocompromises, permettait de conclure à l'infection d'un ou plusieurs individus, les cinq animaux devraient être euthanasiés sans délai, conformément à la réglementation française actuellement en vigueur. Si, en revanche, les résultats s'avéraient tous négatifs, les cinq animaux feraient l'objet d'un suivi supplémentaire de deux ans, selon le protocole et les modalités détaillés ci-dessus.

c) Recherche d'une infection cryptique par la mise en place d'un protocole d'immunosuppression

Dans le courrier adressé par le vétérinaire de l'élevage et le scientifique de l'ITM à Mme la Préfète de l'Aveyron, il est proposé la mise en œuvre d'un protocole d'immunosuppression par administration de dexaméthasone (0,12 mg/kg). Ce procédé a été appliqué dans le cas d'une infection expérimentale chronique à *T. evansi* chez des chevaux (Hagos et al. 2010). L'administration de dexaméthasone a provoqué la réapparition d'une parasitémie massive, alors que les trypanosomes n'étaient plus détectables dans le sang à partir de 80 jours post-infection.

Des réserves sont émises par le Gecu quant à l'application d'un tel protocole dans le but de mettre en évidence une éventuelle infection cryptique chez Paco. Celles-ci sont :

- d'ordre scientifique : l'efficacité de la dexaméthasone pour réaliser une immunosuppression chez le dromadaire, et la capacité de cette immunosuppression à moduler la parasitémie dans cette espèce n'ont pas été démontrées ;
- d'ordre sanitaire et technique : si l'immunosuppression est bien responsable d'une augmentation brutale de la parasitémie chez un animal qui serait resté en infection chronique, ce procédé est susceptible de majorer de façon dramatique le risque de transmission du parasite à d'autres animaux réceptifs. Un tel protocole ne peut raisonnablement pas être envisagé dans les conditions de l'élevage ; il ne serait envisageable que dans un milieu confiné et sécurisé (dans un bâtiment protégé des vecteurs).

En conséquence le **Gecu déconseille fortement cette option.**

d) Remarques d'ordre général sur la gestion des camélidés en France

En matière de risque associé au Surra, le Gecu rappelle que tous les dromadaires vivant en France proviennent (eux-mêmes directement ou leurs ascendants) de zones géographiques où le Surra est enzootique. Considérant l'existence d'un risque d'introduction de *T. evansi* lors de toute importation de camélidés en France, le Gecu réitère les recommandations émises dans l'avis 2006-SA-0321 du 8 décembre 2006 (rappelées dans les avis 2007-SA-0313 du 26 octobre 2007 et 2008-SA-0081 du 30 avril 2008) en insistant sur l'importance :

- de recenser tous les camélidés (dromadaires, chameaux, alpagas, vigognes, lamas, guanacos et leurs croisements) présents en France et d'identifier leur provenance ; « ceci permettrait au gestionnaire de mettre en œuvre un dépistage sérologique vis-à-vis de *T. evansi* chez tous les dromadaires, chameaux et leurs hybrides, compte-tenu de leur nombre a priori limité (<200) »
- d'identifier de façon pérenne tous les camélidés séjournant en France, quelle que soit la durée du séjour afin de garantir leur traçabilité en toutes circonstances ;
- de mettre en œuvre, pour toute importation ou échange intra-communautaire de camélidés, des mesures permettant de garantir leur statut sanitaire vis-à-vis de *T. evansi*.

❖ Conclusions et recommandations du Gecu

Le Gecu ne peut conclure avec certitude à l'élimination définitive de *T. evansi* chez les dromadaires reconnus infectés en 2006 et 2007. Toutefois, **il considère le niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra à partir des dromadaires de La Blaquière comme plus faible à beaucoup plus faible par rapport au niveau de risque encouru en avril 2008.**

Le Gecu a considéré plusieurs modalités de gestion possibles ; le choix de l'une de ces modalités dépend du niveau de risque de résurgence accepté par le gestionnaire.

Dans l'objectif d'assurer un risque de résurgence nul, il devrait être procédé à l'euthanasie des cinq dromadaires précédemment reconnus infectés par T. evansi, conformément aux recommandations émises dans l'avis de l'Afssa 2007-SA-0313. Toutefois, cette mesure serait très probablement suivie de l'introduction par l'éleveur d'animaux de remplacement ne présentant pas eux-mêmes une garantie absolue vis-à-vis du Surra.

L'acceptation d'un risque – au demeurant « minime » – permettrait la conservation des cinq dromadaires de la Blaquièrre ayant été reconnus infectés, **à condition de prolonger le suivi de ces animaux pendant au moins deux ans.**

- Ce suivi impliquerait a minima la réalisation conjointe, deux fois par an, en été, d'examens parasitologiques directs, d'analyses PCR et d'examens sérologiques : ELISA et CATT/T. evansi sur des prélèvements sanguins issus de **tous les dromadaires** de la Blaquièrre.
- Afin d'accroître la probabilité de détection d'une éventuelle infection à bas bruit, il serait très souhaitable que les échantillons de sang issus des cinq dromadaires précédemment infectés soient également inoculés à des souris immunodéficientes.
- Enfin, la réalisation simultanée des analyses parasitologiques et sérologiques sur le liquide céphalo-rachidien de Paco (ou des cinq dromadaires reconnus infectés) augmenterait encore les chances de détecter une infection chronique chez les dromadaires de la Blaquièrre, réduisant ainsi le risque de conserver des animaux qui pourraient être à l'origine d'une résurgence de ce foyer.

Pour des raisons d'ordre scientifique, technique et sanitaire, le Gecu déconseille le recours, sur le site de la Blaquièrre, au protocole expérimental d'immunosuppression par administration de dexaméthasone pour mettre en évidence une éventuelle infection cryptique.

Enfin, le Gecu rappelle à nouveau l'importance de mettre en place, pour toute importation ou échange intra-communautaire de camélidés, les mesures permettant de garantir leur statut sanitaire vis-à-vis de T. evansi, ainsi que l'inventaire et l'identification pérenne de l'ensemble des camélidés présents en France. »

CONCLUSION

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la DGAI concernant une demande d'avis relatif à une réévaluation du niveau de risque de résurgence d'un foyer de Surra (trypanosomose à *Trypanosoma evansi*) dans l'Aveyron.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : trypanosome, trypanosomose, Surra, *Trypanosoma evansi*, dromadaires, trypanocide, mélarsomine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Clausen PH (1986) Antikörper der IgG- und IgM- Klasse im Verlauf und nach Behandlung experimenteller *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) - Infektionen bei Kamelen (*Camelus dromedarius*) in Kenia. Inaugural Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin and der Freien Universität Berlin.

Clausen PH, Hörchner F, Nantulya VM, Musoke AJ, Röttcher, Schillinger D (1992) Pathological changes in cerebrospinal fluid (CSF) from camels (*Camelus dromedarius*) experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. Premier séminaire international sur les trypanosomose animals non transmises par les glossines, Annecy, France, 14-16 octobre 1992.

Coles EH (1980) Cerebrospinal fluid. Vet Clin Pat, 3rd edition. Philadelphia : WB Saunders Co., 362-376.

Fernandez D, Gonzalez-Baradat B, Eleizalde M, Gonzalez-Marcano E, Perrone T, Mendoza M (2009) *Trypanosoma evansi* : A comparison of PCR and parasitological diagnostic tests in experimentally infected mice, Exp Parasitol 121, 1-7.

Gari FR, Ashenafi H, Tola A, Goddeeris BM, Claes F (2010) Comparative diagnosis of parasitological, serological, and molecular tests in dourine-suspected horses. Trop Anim Health Prod 42 (sous presse).

Giroud C, Ottones F, Coustou V, Dacheux D, Biteau N, Miezan B, Van Reet N, Carrington M, Doua F, Baltz T (2009) Murine Models for *Trypanosoma brucei gambiense* disease progression - from silent to chronic infections and early brain tropism. PLoS Negl Trop Dis 3, e509 (14p).

Gutierrez C, Corbera JA, Bayou K, Van Gool F (2008) Use of Cymelarsan in goats chronically infected with *Trypanosoma evansi*. Ann NY Acad Sci 1149, 331-333.

Hagos A, Goddeeris BM, Yilkal K, Alemu T, Fikru R, Yacob HT, Feseha G, Claes F (2010) Efficacy of Cymelarsan® and Diminasan® against *Trypanosoma equiperdum* infections in mice and horse. Vet Parasitol (sous presse).

Jacquet P (2007) Evaluation du rôle de brebis Lacaune naturellement contaminées par *Trypanosoma evansi* comme réservoir du parasite, rapport d'étape.

Jennings FW, Atouguia JM, Murray M (1996) The importance of 2,3-dimercaptopropinol (British anti-lewisite, BAL) in the trypanocidal activity of topical melarsoprol. Acta Tropica 62, 83-89.

Lun ZR, Min ZP, Huang D, Liang JX, Yang XF, Huang YT (1991) Cymelarsan in the treatment of buffaloes naturally infected with *Trypanosoma evansi* in South China Acta Tropica 49, 233-236.

Musa MM, Abdoon AM, Nasir BT, Salim YI, Abdel-Rahman AY, Shommein AM (1994) Efficacy of Cymelarsan in the treatment of natural chronic *Trypanosoma evansi* infection in camels in the Sudan. Rev Elev Med Vet Pays Trop 47, 397-400.

Payne RC, Sukanto IP, Partoutomo S, Jones TW, Luckins AG, Boid R (1994) Efficacy of Cymelarsan in Friesian Holstein calves infected with *Trypanosoma evansi*. Trop Anim Health Prod 26, 219-226.

Pépin J, Milord F (1994) The treatment of Human African Trypanosomiasis. Adv Parasitol 33, 1-47.

Pruvot M, Kamyngkird K, Desquesnes M, Sarataphan N, Jittapalapong S (2010) A comparison of six primer sets for detection of *Trypanosoma evansi* by polymerase chain reaction in rodents and Thai livestock. Vet Parasitol (sous presse).

Tager-Kagan P, Itard J, Clair M (1989) Essai de l'efficacité du CymelarsanND sur *Trypanosoma evansi* chez le dromadaire. Rev Elev Med Vet Pays Trop 42, 55-61.

Van Gool F, Kassa B, Arabe S, Zelleke D (1989) Efficacy of a novel trypanocide in the treatment of *Trypanosoma evansi* infections in camels. Trop Anim Health Prod 21, 223-226.

ANNEXE

Annexe 1 : Technique de prélèvement de liquide céphalo-rachidien par ponction sous-occipitale chez le dromadaire (traduit de l'Allemand - source : Clausen 1986).

La ponction post-occipitale de liquide céphalorachidien (LCR) chez le dromadaire est conduite en s'inspirant d'une méthode décrite pour d'autres espèces animales (Coles, 1980).

Après une sédation par injection de xylazine, l'animal est placé en décubitus sterno-abdominal. Les membres sont attachés, le cou est placé dans le prolongement du corps. La tête est positionnée de telle sorte que le front soit à la verticale. Tête et cou sont calés par des coussins de paille.

Après rasage et désinfection du champ opératoire, la ponction est effectuée à l'aide d'une canule de 120 mm de long et de 1,8 mm de diamètre, munie d'un mandrin en biseau. Elle est réalisée à l'intersection d'une ligne passant par les pôles crâniens des ailes de l'atlas et de la ligne médiane du cou, de façon verticale. Une nette résistance est observée lorsque le mandrin traverse la membrane atlanto-occipitale. Au retrait du mandrin, le LCR s'écoule spontanément. Après avoir laissé s'écouler un premier ml, 5 autres ml sont aspirés dans une seringue stérile, en vue des analyses parasitologiques et sérologiques. Trois ml supplémentaires sont prélevés afin d'inoculer des souris immunodéprimées (1 ml par voie intra-péritonéale à chaque souris). Lorsque la ponction ne permet pas un prélèvement de LCR, généralement, un second essai n'est pas entrepris. Le mandrin est remis en place, et la canule est délicatement retirée, puis une antibiothérapie est appliquée au point d'injection.

Après l'intervention, le dromadaire est maintenu sous surveillance durant deux à trois heures.