



43^{ème} Journée de la Recherche Équine
Jeudi 16 mars 2017

Artérite virale équine en France : estimation du nombre de foyers chez les équidés reproducteurs et de la sensibilité de la surveillance

J.-P. Amat^{1,2}, T. Vergne³, J. Tapprest¹, B. Ferry⁴, A. Hans⁵, P. Hendrikx⁶, B. Dufour⁷, A. Leblond²

¹ Anses, Laboratoire de pathologie équine de Dozulé, Unité Épidémiologie et Anatomie Pathologique, RD 675, 14430 Goustranville, France

² INRA, Centre Auvergne-Rhône-Alpes, site de Theix, UMR EPIA Epidémiologie des maladies animales et zoonotiques, Route de Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

³ Royal Veterinary College, Veterinary Epidemiology, Economics and Public Health Group, Hawkshead Lane North Mymms, Hatfield AL9 7TA, Royaume-Uni

⁴ IFCE, 83-85 Bd Vincent Auriol, 75013 Paris, France

⁵ Anses, Laboratoire de pathologie équine de Dozulé, Unité Virologie, RD 675, 14430 Goustranville, France

⁶ Anses, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Direction des laboratoires, 31 Avenue Tony Garnier, 69364 Lyon Cedex 07, France

⁷ École nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), Unité Épidémiologie des maladies animales infectieuses EpiMAI USC Anses, Université Paris Est, 7 Avenue du Général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort, France

Résumé

Le dispositif de **surveillance de l'artérite virale équine -AVE-** chez les reproducteurs (DSR) repose essentiellement sur des tests **sérologiques annuels**. L'**interprétation de certains résultats est complexe**, rendant difficile l'**estimation du nombre de foyers**. Ce travail avait pour but **(i)** de déterminer le nombre de cas et foyers détectés chez les reproducteurs de 2006 à 2013 et **(ii)** d'**estimer la sensibilité du DSR**, après avoir estimé le nombre **total de foyers apparus chez les reproducteurs**. Le cas de **séroconversion a été défini comme le passage d'un résultat négatif à un titre en anticorps ≥ 32 , ou comme l'augmentation d'au moins trois titres en anticorps**. Ces règles ont permis d'**identifier 239 cas et 177 foyers détectés** par le DSR en 2006-2013. Par une approche bayésienne et une méthode de capture-recapture, le nombre total de foyers a été estimé à 215 en 2006-2013 (intervalle de crédibilité $IC_{95\%}=195-249$) et la sensibilité du DSR à 82% ($IC_{95\%}=71-91$), confirmant sa pertinence. Les anticorps semblent persister au moins huit ans chez certaines juments. Les règles proposées **pourraient être utiles pour d'autres études mais n'ont pas vocation à remplacer celles de gestion de la monte**.

Mots clés : Artérite virale équine, reproducteurs, surveillance, séroconversion, sensibilité.

Summary

The French breeding stock surveillance system (BSS) for equine viral arteritis (EVA) is mainly based on serological tests. Difficulties in interpreting certain series of results may impair the estimation of the number of outbreaks. Purposes of this study were **(i)** to estimate the number of cases and outbreaks detected by the BSS in breeding stock in 2006-2013 and **(ii)** to **estimate the BSS's sensitivity, after having estimated the total number of outbreaks that occurred in breeding stock**. Seroconversion was defined as a change in antibody titer from **negative to ≥ 32 , or as a three-titer or greater increase in antibody titer**. Using these rules, 239 cases and 177 outbreaks detected by the BSS were identified in 2006-2013. Using a Bayesian approach and a capture-recapture model, the total number of outbreaks was estimated at 215 in 2006-2013 (95% credible interval $CrI_{95\%}$ 195-249) and the BSS's sensitivity at 82% ($CrI_{95\%}$ 71-91), which supports its relevance. Neutralizing antibodies seem to persist up to eight year in certain mares. The proposed rules may be used in other epidemiological studies but do not have to replace the rules applied for mating agreements.

Key-words: Equine viral arteritis, breeding stock, surveillance, seroconversion, sensitivity.



Introduction

L'artérite virale équine (AVE) est une maladie infectieuse des équidés due à un virus de la famille *Arteriviridae*, ordre *Nidovirales*, pouvant causer des troubles respiratoires et reproductifs, en particulier des avortements. La transmission virale se fait principalement horizontalement par voie aérienne et vénérienne, y compris par la semence congelée. La transmission verticale *in utero* est toutefois possible, de même que la transmission indirecte par des matières contaminées. Après infection, le virus est généralement éliminé en quelques jours ou semaines, à l'exclusion de certains étalons (jusqu'à 70 %) qui présentent un portage asymptomatique dans l'appareil reproducteur et peuvent excréter le virus dans leur semence. Ces étalons excréteurs, jouant le rôle de réservoir, peuvent transmettre le virus lors de la monte (Balasuriya *et al.*, 2013).

Le système français de surveillance de l'AVE comporte plusieurs dispositifs, dont le dispositif de surveillance des reproducteurs (DSR). Celui-ci a pour objectif de détecter l'infection chez les étalons et juments de certaines races avant saillie et d'éviter ainsi la diffusion de l'AVE durant la monte. Le DSR détecte quelques étalons excréteurs chaque année à l'aide de tests virologiques. Plusieurs milliers de tests sérologiques sont également réalisés chaque année mais le nombre exact de séroconversions détectées n'est pas connu (Hans et Marcé, 2012). En outre, tous les reproducteurs ne sont pas testés. Ainsi, le nombre total de foyers d'AVE chez les équidés reproducteurs français et la sensibilité du DSR ne sont pas connus.

Les objectifs de cette étude étaient (i) de définir des règles *ad hoc* d'identification des séroconversions pour estimer le nombre de cas et de foyers d'AVE détectés chez les équidés reproducteurs français entre 2006 et 2013, et (ii) d'estimer la sensibilité du DSR, en estimant le nombre total de foyers d'AVE apparus chez les reproducteurs sur cette période par une méthode de capture-recapture.

1 Matériel et méthodes

1.1 Dispositif de surveillance des reproducteurs (DSR)

Le DSR est géré par des acteurs publics, l'Institut français du cheval et de l'équitation (IFCE), et privés, les stud-books. La surveillance de l'AVE chez les reproducteurs n'est pas formellement obligatoire, mais certains stud-books conditionnent l'inscription du poulain à naître au registre généalogique de la race à la réalisation de tests pour l'AVE chez l'étalon et la jument (IFCE, 2015). Les tests doivent être réalisés pour chaque saison de monte avant toute saillie. La saison de monte s'étalant généralement de février à juin, les tests sont effectués pour plus de 80 % d'entre eux entre janvier et avril (S. Vinatier, communication personnelle). Les juments testées sont celles produisant des poulains de course. Il s'agit de quasiment toutes les juments de race Pur-Sang et Autre-Que-Pur-Sang et d'une partie des juments de races Arabe, Anglo-Arabe et Selle Français. Une vingtaine de races d'étalons utilisés en monte naturelle sont aussi sous surveillance ainsi que tous les étalons utilisés pour l'insémination artificielle (IFCE, 2015).

La France comporte environ 40 000 élevages d'équidés, c'est-à-dire de structures professionnelles ou de particuliers détenant au moins une jument utilisée pour la reproduction, appelée ci-après jument reproductrice ou poulinière. Environ 7 000 de ces élevages détiennent les 13 000 équidés testés pour l'AVE chaque année, dont 10 000 juments. Ces juments sont réparties dans 6 000 élevages situés dans 2 000 communes. Plus de 40 % de ces communes sont en Basse-Normandie, Pays-de-la-Loire ou Bretagne, les trois plus grandes régions d'élevage du pays (B. Ferry, X. Dornier et S. Vinatier, communications personnelles).

La surveillance repose essentiellement sur la réalisation annuelle de tests sérologiques, le test de neutralisation virale (*viral neutralization test*, VNT), réalisé sur sérum. Le VNT, test de référence prescrit par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) pour l'AVE, détecte la présence d'anticorps neutralisants qui persistent plusieurs années après infection naturelle. Il est le seul test utilisé chez les poulinières, étant donné qu'il n'existe pas de persistance virale chez les juments (Balasuriya *et al.*, 2013) et qu'elles ne sont pas vaccinées. En effet, un vaccin à virus inactivé (Artervac® Zoétis Santé animale, Kalamazoo, Michigan, USA) est commercialisé en France et induit une production d'anticorps neutralisants détectables par VNT, mais les juments ne sont pas vaccinées en France contrairement à certains étalons (B. Ferry, communication personnelle). La surveillance des étalons repose en partie sur le VNT mais aussi sur des tests virologiques pour la détection du virus dans la semence, par isolement viral et test d'amplification en chaîne par polymérase après transcription inverse (reverse transcriptase-polymerase chain reaction ou RT-PCR). En plus des étalons vaccinés, ces tests virologiques sont pratiqués, en cas de résultat positif en VNT, pour confirmer l'infection et pour vérifier si l'étalon excrète le virus dans sa semence.

Les données collectées par le DSR-dont date des tests, résultats, identifiants de l'équidé et localisation- sont enregistrées par l'IFCE dans la base de données SIRE (Système d'information relatif aux équidés).



1.2 Données utilisées

Les données utilisées proviennent de la base SIRE. Les données relatives à tous les équidés reproducteurs avec au moins un résultat positif en VNT entre janvier 2006 et décembre 2013 ont été extraites. Pour chaque équidé, un identifiant unique, le sexe, la race, la localisation, la date et les résultats des tests sérologiques de l'AVE (VNT) étaient disponibles. Les données relatives à 1 645 juments et 32 étalons ont ainsi été obtenues. Une partie des résultats d'analyse relatifs aux étalons n'étant pas interprétables, et compte tenu de leur faible nombre en regard des juments, seules les données portant sur les juments ont été analysées dans cette étude. Parmi les 8 934 résultats sérologiques de juments, seuls 28 ont été classés ininterprétables (0,3 %) et n'ont pas été utilisés. Pour la localisation de la jument, la commune de l'élevage enregistrée au début de chaque saison de monte (« lieu de stationnement habituel de la jument ») a été utilisée. Pour les juments identifiées comme des cas d'après les règles définies dans cette étude (voir *infra*), le nombre de juments testées pour l'AVE dans la même commune et au cours de la même année a également été extrait de la base SIRE.

1.3 Définitions du cas et du foyer

Le cas a été défini comme une jument présentant une séroconversion, détectée par l'interprétation d'au moins deux résultats sérologiques. L'objectif était de dénombrer les nouveaux cas (cas incidents) détectés chaque année par le dispositif. Pour cette raison, et compte tenu de la persistance des anticorps pendant plusieurs années après infection, l'obtention d'un résultat positif isolé n'a donc pas conduit à conclure à un nouveau cas. L'analyse d'une série de résultats de VNT sur plusieurs années pour un même équidé s'est avérée complexe dans un grand nombre de cas. Par conséquent, un groupe d'experts a été constitué afin d'établir des règles d'identification de la séroconversion spécifiquement pour cette étude. Les quatre experts sollicités étaient des épidémiologistes et des spécialistes de la maladie et de son diagnostic de laboratoire.

Le foyer a été défini comme une commune dans laquelle au moins un cas d'AVE est apparu au cours d'une année, au sein des équidés reproducteurs. Il s'agit donc d'une « commune-année » infectée. Les communes ainsi considérées sont celles détenant au moins une jument testée pour l'AVE, c'est-à-dire utilisée pour produire un poulain de course. La commune a été choisie car c'est le niveau d'information géographique le plus précis renseigné dans la base SIRE pour la localisation des juments, l'adresse précise et la liste des élevages n'étant pas disponibles. La France comporte 36 552 communes, dont la superficie médiane est de 10,7 km². A chaque saison de monte au cours de laquelle une jument est testée pour l'AVE, une commune de stationnement est enregistrée dans la base SIRE pour cette jument. En cas de déménagement ou changement de détenteur, des communes différentes peuvent apparaître pour une même jument au cours du temps.

Les juments étant généralement testées chaque année et en début d'année, avant la monte, il a été formulé comme hypothèse de travail qu'une séroconversion détectée une année *a* révélait une infection s'étant très probablement produite l'année *a-1*. Ainsi, le foyer a été considéré comme étant la commune de stationnement de l'année *a-1*. Si la commune de stationnement de l'année *a-1* n'était pas enregistrée dans la base SIRE, l'année *a-2* voire *a-3* a été prise en compte.

Les juments produisant des poulains de course sont généralement mises à la reproduction -et donc testées- chaque année. Ainsi, l'identification d'une séroconversion nécessite en principe d'analyser les résultats de deux années successives, voire plus. La centralisation et consolidation des données étant assurée depuis une dizaine d'années, les résultats les plus anciens du jeu de données analysé sont ceux de 2006. Il en découle que des séroconversions ont pu être détectées à partir de 2007 et jusqu'en 2013 inclus. Du fait de l'hypothèse de travail précédente d'une infection se produisant l'année précédant la découverte de la séroconversion, la présente étude a donc permis d'identifier le nombre de cas d'infection s'étant produits de 2006 à 2012 inclus.

1.4 Méthode de capture recapture, approche bayésienne

Le nombre total de foyers apparus chez les reproducteurs sur la période d'étude a été estimé par méthode de capture-recapture. Ces méthodes permettent d'estimer le nombre total d'unités épidémiologiques infectées (individus, élevages, communes, *etc.*), qu'elles soient détectées ou non, dans un contexte de surveillance imparfaite (Vergne *et al.*, 2015). Nous avons ici retenus comme unité épidémiologique le foyer d'AVE (commune-année). Nous disposons d'une seule source de données (le DSR) et nous avons donc eu recours à une méthode de capture-recapture dite « uniliste », c'est-à-dire utilisant une seule liste ou source de cas, par opposition aux approches « multilistes » applicables lorsque les unités infectées peuvent être détectées par plusieurs dispositifs de surveillance. Les méthodes unilistes permettent d'estimer le nombre total d'unités infectées en modélisant le nombre de détections des unités infectées détectées (Vergne *et al.*, 2015). Dans le cas présent, il s'agissait du nombre de détections de chaque foyer, c'est-à-dire du nombre de cas détectés par le DSR au sein de chaque foyer. Ainsi, un foyer a pu être détecté une fois ou plus (si un ou plusieurs cas ont été détectés), ou bien non détecté si aucun cas du foyer n'a pu être détecté.



Soit Y_i la variable dénombrant les cas détectés dans le foyer i . **L'hypothèse a été faite que Y_i suit une loi de distribution binomiale de paramètres t_i et π , avec t_i le nombre de juments testées dans le foyer i et π la probabilité qu'une jument testée soit identifiée comme un cas d'AVE. La variable Y_i peut donc prendre les valeurs de 0 à t_i , t_i étant le dénominateur binomial, correspondant au nombre maximal de cas pouvant être détectés dans le foyer i . Pour chaque foyer détecté, le nombre de juments testées la même année au sein du foyer a été extrait de la base SIRE et variait de 1 à 109, avec une moyenne de 15,7 et une médiane de 7. Une jument testée est identifiée comme un cas si elle est infectée et si son infection est détectée (le VNT et les règles d'identification des cas proposées *infra* étant considérés parfaitement spécifiques). Ces deux conditions devant être simultanément remplies, la probabilité π a été décomposée en produit de *Inc*, le taux d'incidence intra-foyer, par *SeR*, la sensibilité des règles proposées pour l'identification des séroconversions (*SeR* incluant la sensibilité du test). Etant donné que le nombre de foyers avec aucun cas détecté (zéro détection, $y_i=0$) est inconnu, le nombre de cas observés par foyer est strictement positif et suit une distribution binomiale *tronquée en zéro* telle que :**

$$P(Y_i = y_i | y_i > 0, t_i, Inc, SeR) = \frac{\frac{t_i!}{y_i!(t_i-y_i)!} (Inc * SeR)^{y_i} (1 - Inc * SeR)^{t_i-y_i}}{1 - (1 - Inc * SeR)^{t_i}}$$

Les paramètres *Inc* et *SeR* ont été estimés par approche bayésienne avec le logiciel WinBUGS (Spiegelhalter *et al.*, 2003). **La distribution binomiale tronquée en zéro a été spécifiée à l'aide du « zero-trick »** proposé par Spiegelhalter et collègues (2003). Des distributions beta *a priori* de paramètres (4,6, 9,3) et (44,9, 11,3) ont respectivement été déterminées à dire d'experts pour *Inc* et *SeR*, en sollicitant les mêmes spécialistes que pour la définition des règles d'identification de la séroconversion (Amat *et al.*, 2016). Les distributions *a posteriori* ont été déterminées en simulant trois chaînes de 10 000 itérations chacune. La convergence des chaînes a été vérifiée visuellement par le tracé de l'historique et par le test de comparaison des variances inter- et intra-chaînes de Brooks-Gelman-Rubin. Les 2 000 premières itérations de chaque chaîne ont été retirées de l'analyse pour ne conserver que les simulations après convergence.

Les distributions *a posteriori* de *Inc* et *SeR* et le nombre de juments testées dans chaque foyer détecté (donnée extraite de la base SIRE) ont ensuite été utilisés pour estimer le nombre total de foyers N_{inf} et la sensibilité du DSR. Pour cela, il a été considéré que C_i , le nombre de cas (détectés ou non) parmi les juments testées dans un foyer i , suivait une distribution binomiale tronquée en zéro de paramètres t_i , le nombre de juments testées dans le foyer i , et *Inc* le taux d'incidence intra-foyer. Cette distribution est tronquée en zéro car il est considéré que dans tout foyer il y a au moins un cas parmi les juments testées, toutes les juments reproductrices étant considérées testées.

Parmi les juments infectées testées C_i , seules certaines sont effectivement détectées comme des cas. Il a été considéré que Y_i , le nombre de cas détectés dans un foyer i , suivait une loi binomiale de paramètre C_i et *SeR*, la sensibilité des règles proposées pour l'identification des séroconversions. Ainsi pour chaque foyer détecté, la probabilité de ne pas l'avoir détecté a été calculée, c'est-à-dire la probabilité $\Pr(Y_i=0)$ qu'aucun cas n'ait été détecté. Pour chaque foyer i , cette probabilité a été obtenue en faisant la somme des probabilités que $Y_i=0$ pour toutes les valeurs possibles de C_i , comprises entre 1 et t_i (nombre de juments testées dans le foyer) :

$$\Pr(Y_i = 0) = \sum_{c_i=1}^{t_i} \Pr(Y_i = 0 \cap C_i = c_i)$$

L'équation précédente peut être décomposée en utilisant le théorème de Bayes sous la forme suivante :

$$\Pr(Y_i = 0) = \sum_{c_i=1}^{t_i} \{\Pr(Y_i = 0 | C_i = c_i) * \Pr(C_i = c_i)\}$$

En utilisant les formules des fonctions de masse des distributions binomiale pour Y_i et binomiale tronquée en zéro pour C_i , l'équation précédente devient :

$$\Pr(Y_i = 0) = \sum_{c_i=1}^{t_i} \left\{ (1 - SeR)^{c_i} * \frac{\frac{t_i!}{c_i!(t_i-c_i)!} * Inc^{c_i} * (1 - Inc)^{t_i-c_i}}{1 - (1 - Inc)^{t_i}} \right\}$$

La probabilité $\Pr(Y_i=0)$ de ne pas détecter le foyer a été calculée pour chaque foyer détecté i avec WinBUGS en utilisant les données extraites de la base SIRE pour t_i et les distributions *a posteriori* de *Inc* et *SeR*.

Considérant que les distributions du nombre de juments testées dans les foyers détectés et dans les foyers non détectés sont les mêmes, le nombre total de foyers d'AVE chez les reproducteurs N_{inf} a été estimé grâce à une extension de l'estimateur d'Horvitz-Thompson proposée par Van der Heijden et collaborateurs (2003) :



$$\widehat{N}_{inf} = \frac{N_{obs}}{1 - \Pr(Y_i = 0)}$$

avec N_{obs} le nombre de foyers détectés (*observés*) par le DSR. La sensibilité du DSR, SeD , a été définie comme la proportion de foyers détectés par le DSR parmi tous les foyers apparus chez les reproducteurs durant la même période. Elle a été estimée en faisant le rapport entre N_{obs} et le nombre total estimé de foyers (\widehat{N}_{inf}).

2 Résultats

2.1 Règles proposées pour l'identification des séroconversions

Les modifications du titre en anticorps peuvent être dues à une infection ou réinfection récente, ou à des raisons non infectieuses telles que des variations entre pratiques de laboratoires. Les juments n'étant pas vaccinées contre l'AVE en France, la vaccination n'a pas été retenue comme cause possible d'augmentation du titre en anticorps dans cette étude. Une infection récente semble se traduire par une augmentation du titre en anticorps bien plus forte que celle à laquelle on peut s'attendre du fait de variations entre laboratoires (Go *et al.*, 2012). Toutefois, il n'existe pas de description précise de l'évolution du titre en anticorps durant les semaines/mois/années qui suivent une infection naturelle et il est parfois difficile de distinguer une infection récente d'une variation pour d'autres raisons à la lecture d'une série de résultats de VNT.

Afin de proposer des règles spécifiques à cette étude permettant d'identifier les séroconversions avec un haut degré de certitude, le groupe d'experts a étudié une cinquantaine de séries de titres en anticorps différentes issues des données extraites de la base SIRE. Deux types de séries ont été distingués. Le premier type correspond aux juments dont le premier résultat de VNT disponible est négatif et chez lesquelles un ou des titres en anticorps positifs sont obtenus ensuite. Le second type correspond à des juments dont le premier résultat est positif et chez lesquelles une augmentation du titre est ensuite observée.

Pour le premier type de séries, plusieurs profils ont été observés dans les données extraites. Beaucoup de juments présentaient des résultats initiaux négatifs suivis de résultats positifs uniquement ; la séroconversion est relativement facile à détecter lorsque les titres demeurent élevés et stables (voir *jument 1* sur la figure 1). Certains profils plus surprenants présentaient des résultats initialement négatifs, puis positifs et à nouveau négatifs (éventuellement suivis de nouveaux résultats positifs). Pour une petite partie de ces cas, un résultat négatif unique apparaissait au milieu d'une série de plusieurs titres élevés (voir *jument 2*). Un tel résultat négatif est probablement erroné, par exemple du fait d'une erreur d'analyse ou de saisie. Mais pour la plus grande partie de ces séries alternant résultats positifs et négatifs, les titres en anticorps étaient très faibles (quatre ou huit). Ce type de variation autour de valeurs faibles (voir *jument 3*) correspond vraisemblablement à des équidés infectés plusieurs années auparavant.

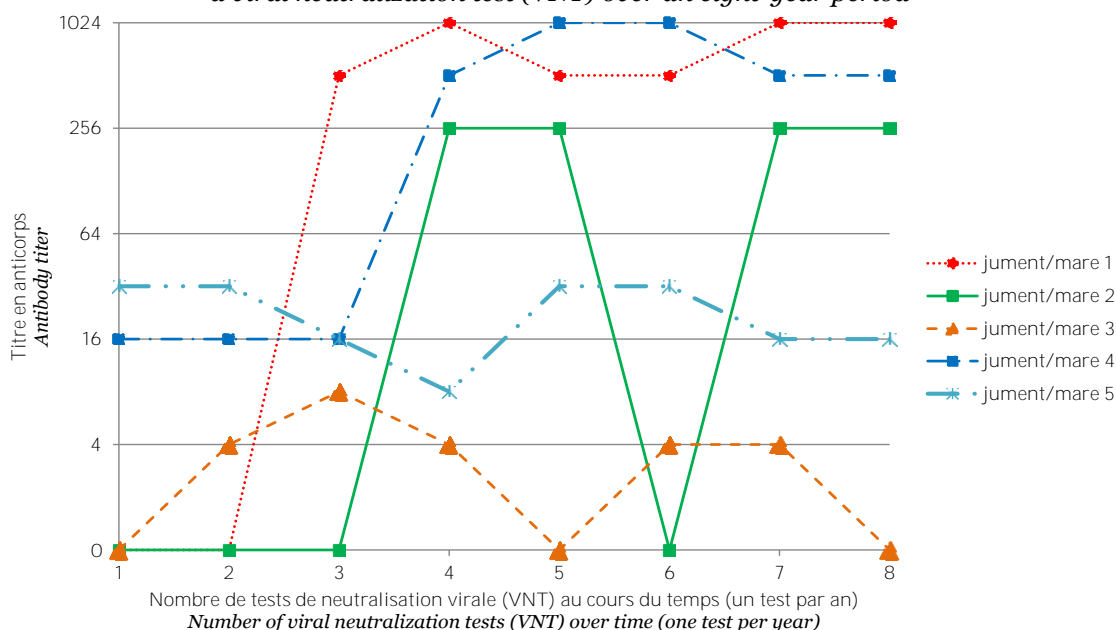
Pour le second type de séries, les experts ont tenté d'identifier les augmentations de titres suffisamment importantes pour pouvoir conclure qu'elles sont probablement la conséquence d'une réinfection. Chez certaines juments, le titre en anticorps augmentait fortement, par exemple de 16 à 512, et durablement, s'avérant compatible avec une réinfection récente (voir *jument 4*). Mais dans la plupart des cas, le premier résultat positif était suivi de titres équivalents, inférieurs ou légèrement supérieurs (voir *jument 5*). Pour ces juments, l'infection par le virus de l'AVE remonte probablement à plusieurs mois/années, et le titre en anticorps peut décliner ou varier légèrement autour de valeurs hautes ou plus basses (voir *jument 3*).

Il est par ailleurs intéressant de noter que les résultats de VNT étudiés ont montré une persistance des anticorps neutralisant le virus de l'AVE pendant au moins huit ans chez des juments naturellement infectées.

D'après le Laboratoire national de référence (LNR) pour l'AVE, le titre en anticorps peut rester stable ou varier légèrement chez un équidé infecté depuis plusieurs mois ou années et testé régulièrement. Cette variation est très généralement comprise entre un titre au-dessous et un titre au-dessus de la « vraie » valeur centrale. Ainsi, les titres en anticorps chez un équidé avec un taux d'anticorps « stable » peuvent varier du simple au quadruple (par exemple entre 64 et 256) ; dans le cas d'un taux en anticorps stable mais bas, une variation similaire peut être observée mais incluant des résultats négatifs (résultat négatif ou titre égal à quatre ou à huit). Les variations plus importantes semblent très peu probables.



Figure I : Exemple de séries de titres en anticorps neutralisant le virus de l'AVE chez cinq juments reproductrices testées chaque année durant huit ans avec un test de neutralisation virale (VNT)
Figure I: Examples of equine viral arteritis antibody titer curves in five brood mares tested each year using a viral neutralization test (VNT) over an eight-year period



Pour ce travail, le groupe d'experts a considéré comme étant une séroconversion (i) le passage d'un résultat négatif à un titre au moins égal à 32, ou (ii) une augmentation d'au moins trois titres en anticorps pour les juments ayant des résultats initiaux positifs (par exemple, passage d'un titre 16 à 128 ou supérieur).

La séroconversion a été identifiée en comparant des résultats de VNT issus de deux années successives ou plus, étant donné que les juments reproductrices ne sont parfois pas testées pendant une année et que la détection d'une augmentation du titre en anticorps suite à une infection/réinfection peut quelquefois nécessiter deux années de tests. En effet, si la jument est prélevée très peu de temps après infection, la production d'anticorps peut être encore faible, ne permettant pas leur détection ou l'atteinte des seuils d'augmentation de titres définis précédemment pour identifier une séroconversion.

Afin d'analyser la sensibilité des règles proposées pour l'identification des séroconversions, une règle alternative a aussi été appliquée. Il s'agit de considérer également comme séroconversion le passage d'un résultat négatif à un titre égal à 16 -ou au titre intermédiaire 24. La sensibilité du DSR estimée avec les règles retenues a été comparée avec celle estimée en utilisant la règle alternative, plus sensible et moins spécifique.

2.2 Nombre de cas et de foyers d'artérite virale équine détectés par le DSR

En appliquant les règles proposées pour identifier les séroconversions, 239 cas d'AVE détectés entre 2006 et 2013 par le DSR chez les juments reproductrices ont été comptabilisés (figure II). Pour trois cas, la commune de l'élevage n'était pas enregistrée dans la base SIRE et ils ont donc été retirés de la suite de l'analyse.

Les juments de race Pur-Sang représentent la plus grande partie des cas d'AVE détectés par le DSR, devant les Selle-Français (tableau 1). A l'exception d'une jument de selle de race non connue, tous les autres cas avec localisation connue appartiennent aux cinq races précédemment citées.

Les 236 cas d'AVE détectés dont la localisation était connue ont ensuite été comptabilisés par foyer (commune-année infectée). Dans 85 % des cas, la commune de l'élevage pour l'année *a-1* était disponible et a été utilisée. Pour les autres juments, cette donnée n'était pas enregistrée dans la base SIRE et la commune pour l'année *a-2* voire *a-3* a été utilisée pour respectivement 14 % et moins de 2 % (quatre juments) des cas. Au bilan, 177 foyers ont été identifiés (tableau 2). La grande majorité des foyers ne comportait qu'un seul cas détecté et un maximum de 30 cas ont été détectés dans un même foyer.

En appliquant la règle alternative d'identification des séroconversions, le nombre de cas d'AVE détectés chez les juments reproductrices par le DSR entre 2006 et 2013 s'élève à 304, répartis dans 235 foyers.



Figure II : Arbre de décision des règles d'identification des cas d'artérite virale équine chez les poulinières testées entre janvier 2006 et décembre 2013 en France au moyen du test de neutralisation virale (VNT)
 Figure II: Flow chart documenting the rules used to identify equine viral arteritis cases in brood mares tested between January 2006 and December 2013 in France using the viral neutralization test (VNT)

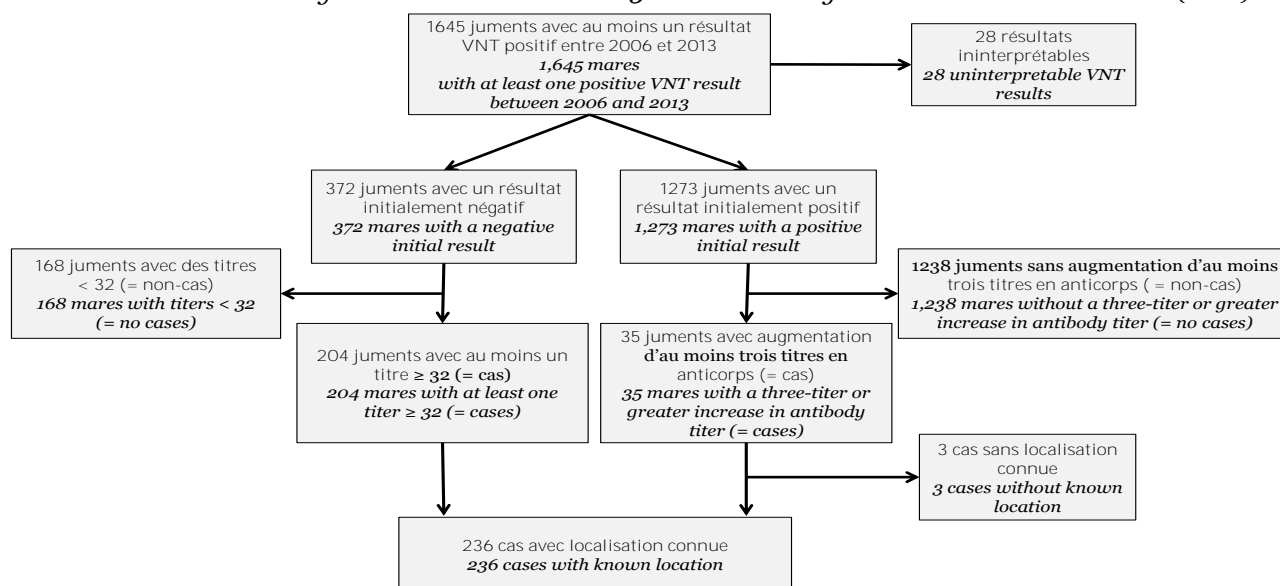


Tableau 1 : Nombre de cas d'artérite virale équine (AVE) avec localisation connue, par race, détectés chez les juments reproductrices par le dispositif de surveillance des reproducteurs (DSR) entre 2006 et 2013
 Table 1: Number of equine viral arteritis (EVA) cases with a known location detected in mares by the breeding stock surveillance system (BSS) between 2006 and 2013 for each breed

Race de la jument Mare's breed	Pur-Sang /Thoroughbred	Arabe/ Arabian horse	Anglo-Arabe/ Anglo-Arabian	Autre-Pur-Sang/ French Chaser	Selle Français/ French Saddle	Autre (race de selle)/Other (riding horse)	Total
Nombre de cas d'AVE détectés par le DSR avec localisation connue Number of EVA cases with a known location detected by the BSS	170	5	26	1	33	1	236

Tableau 2 : Nombre de cas d'artérite virale équine (AVE) par foyer détectés chez les juments reproductrices par le dispositif de surveillance des reproducteurs (DSR) entre 2006 et 2013
 Table 2: Number of equine viral arteritis (EVA) cases detected in the outbreaks identified by the breeding stock surveillance system (BSS) in French breeding stock between 2006 and 2013

Nombre de cas d'AVE détectés par foyer Number of EVA cases detected per outbreak	0	1	2	3	4	7	8	30	Total
Nombre de foyers identifiés en utilisant les règles proposées par les experts pour identifier les séroconversions / Number of outbreaks identified using the seroconversion definition proposed by the panel	-	158	13	1	3	1	-	1	177
Nombre de foyers identifiés en utilisant la règle alternative pour identifier les séroconversions / Number of outbreaks identified using the alternative seroconversion definition	-	209	18	3	3	-	1	1	235

2.3 Estimation du nombre de foyers d'AVE chez les reproducteurs et de la sensibilité du DSR

Les distributions *a posteriori* de *Inc*, taux d'incidence intra-foyer, de *SeR*, sensibilité des règles proposées pour l'identification des séroconversions, de *N_{inf}*, nombre total de foyers et de *SeD*, sensibilité du DSR, sont présentées dans le tableau 3. Dans ce tableau apparaissent les médianes des distributions et les intervalles de crédibilité à 95 % (IC₉₅ %), qui sont les intervalles comportant 95 % des valeurs estimées. Le nombre total de



foyers d'AVE apparus chez les reproducteurs de 2006 à 2012 a été estimé à 215 (ICr_{95 %} 195-249) par le modèle, soit une moyenne de 31 foyers par an (ICr_{95 %} 28-36). Durant ces sept ans, 177 foyers ont été détectés par le DSR. Le rapport entre ce nombre et le nombre total estimé de foyers a permis au modèle d'estimer une sensibilité du DSR de 82 % (ICr_{95 %} 71-91) pour la détection de foyers au sein des communes (tableau 3).

Tableau 3 : Taux d'incidence d'AVE intra-foyer, sensibilité des règles d'identification des séroconversions, nombre total de foyers chez les reproducteurs et sensibilité du DSR estimés pour 2006-2012

Table 3: Incidence rate of EVA within outbreaks, sensitivity of the rules for identifying seroconversion, total number of outbreaks in French breeding stock and sensitivity of the BSS estimated in 2006-2012

	Paramètre estimé Estimated parameter	Médiane Median	Intervalle de crédibilité à 95% 95% credible interval
\widehat{Inc}	Taux d'incidence intra-foyer (%) / Incidence rate within outbreaks (%)	4,9	3,8-6,4
\widehat{SeR}	Sensibilité des règles proposées pour identifier les séroconversions (%) Sensitivity of the proposed rules for identifying seroconversion (%)	79	66-88
$\widehat{N_{mf}}$	Nombre total de foyers d'AVE / Total number of EVA outbreaks	215	195-249
\widehat{SeD}	Sensibilité du DSR (%) / BSS's sensitivity (%)	82	71-91

En utilisant la règle alternative d'identification des séroconversions, le nombre total de foyers d'AVE est estimé à 287 (ICr_{95 %} 260-334) au cours de la même période. Toutefois, l'utilisation de cette règle alternative n'a pas entraîné de différence significative sur les distributions *a posteriori* de la sensibilité du DSR (médiane 82 %, ICr_{95 %} 70-90), du taux d'incidence intra-foyer (médiane 3,5 %, ICr_{95 %} 2,7-4,6) ni de la sensibilité des règles d'identification des séroconversions (médiane 79 %, ICr_{95 %} 66-88).

3 Discussion

3.1 Règles d'identification des séroconversions

Les anticorps neutralisants sont détectés dès une à deux semaines après infection, avec un pic entre deux et quatre mois, et ils peuvent persister des années (Balasuriya et MacLachlan, 2004) mais la variation à long terme du titre en anticorps après infection n'est pas précisément documentée à notre connaissance. Il était difficile de fixer un seuil pour distinguer les nouveaux cas réels d'infection ou de réinfection des autres causes d'augmentation du titre en anticorps. Les règles proposées dans cette étude sont probablement imparfaites mais les données disponibles tendent à montrer qu'une infection naturelle ou expérimentale induit des titres généralement élevés, c'est-à-dire égaux ou supérieurs à 64 (Go *et al.*, 2012; MacLachlan *et al.*, 1998).

Il est important que l'historique des résultats soit accessible pour pouvoir interpréter tout nouveau résultat, aussi bien pour connaître le statut individuel que pour réaliser une analyse à l'échelle d'une population. Une telle analyse épidémiologique nécessite des règles *ad hoc* d'identification des séroconversions. Les règles proposées ici pourraient, après modifications éventuelles, être utilisées pour exploiter les données collectées par les autres dispositifs surveillant l'AVE en France (notamment dépistages avant-export et vente), voire pour valoriser les données sanitaires d'autres pays. La définition de règles *ad hoc* pour l'investigation épidémiologique ne remet toutefois aucunement en question les règles différentes actuellement mises en œuvre à des fins de gestion sanitaire (autorisations d'export ou de vente, agréments pour la monte, prise de mesures de lutte) et dont l'application doit être poursuivie pour éviter les risques de diffusion.

3.2 Modèle mathématique utilisé

L'utilisation d'un modèle binomial tronqué en zéro présuppose certaines hypothèses. En particulier, les observations sont présumées être indépendantes les unes des autres, c'est-à-dire que tous les équidés infectés doivent avoir la même probabilité d'être détectés (Dohoo *et al.*, 2010). Cette hypothèse est peut-être non respectée ici car les juments sont fréquemment détenues en groupe (élevages) et la probabilité de détection des cas peut varier d'un élevage à l'autre. La probabilité de détection peut également varier à l'échelle de la commune. Une commune comportant un grand nombre de cas a en effet une plus grande probabilité d'être détectée comme étant infectée qu'une commune avec un seul cas. Le nombre de cas d'une commune dépend de nombreux paramètres, dont le nombre d'équidés au sein de la commune, la pression d'infection, le temps écoulé entre l'introduction du virus et la réalisation des tests, le type d'utilisation des équidés, la fréquence des contacts intra- et inter-communes et la proportion d'individus déjà immunisés. Ces paramètres ont probablement conduit à une hétérogénéité de la probabilité de détection des cas et foyers. Il aurait été utile



de mesurer leur effet potentiel et de les inclure comme covariables du modèle pour mieux prendre en compte l'hétérogénéité de détection, mais seul le nombre de juments testées par commune était disponible.

3.3 Nombre de cas et de foyers détectés par le DSR

Les nombres de cas (239) et de foyers (177) détectés par le DSR entre 2006 et 2013 ne sont pas négligeables et confirment la circulation du virus de l'AVE chez les reproducteurs durant cette période. Ils justifient la mise en place d'une surveillance dans le cadre de la monte, dans le but d'identifier les nouveaux cas d'infection et d'éviter la diffusion de la maladie *via* les activités de reproduction, en particulier au sein d'un cheptel généralement de haute valeur économique. Ces résultats peuvent nourrir la réflexion des autorités sanitaires sur les possibles extensions de cette surveillance à d'autres races de reproducteurs.

Parmi les 239 cas identifiés, 35 juments (15 %) ont présenté une augmentation d'au moins trois titres en anticorps après avoir présenté des résultats VNT initialement positifs. **N'étant pas vaccinées, ces poulinières ont probablement été réinfectées. Il est actuellement admis que l'infection naturelle induit une immunité durable et efficace contre la réinfection par la plupart sinon la totalité des souches du virus de l'AVE, mais la possibilité d'une réinfection a été proposée par certains auteurs (Balasuriya et MacLachlan, 2004).**

La plupart des cas détectés sont de race Pur-Sang, suivis par les races Selle Français et Anglo-Arabe. Ces races sont, dans le même ordre décroissant, celles avec le plus grand nombre de juments testées pour la monte chaque année. En 2012, elles représentaient respectivement 78 %, 11 % et 6 % des poulinières testées par le DSR. Pour chacune des cinq races étudiées, la proportion moyenne de cas parmi les juments testées était inférieure à 1 % entre 2006 et 2012. **L'estimation du taux d'incidence par race n'a toutefois pas été réalisée car elle n'était pas un objectif de la présente étude et elle aurait nécessité des méthodes de calcul spécifiques, relatives à un échantillonnage à deux degrés (échantillonnage des communes puis des juments).**

3.4 Estimation du taux d'incidence annuelle de l'AVE

De 2006 à 2012, environ 6 000 élevages détenant des poulinières, répartis dans environ 2 000 communes, ont été testés chaque année. Le **taux d'incidence** annuelle estimé à l'échelle commune est de l'ordre de 1,6 % pour ces communes, et de 0,1 % en considérant toutes les communes françaises, détenant ou non des poulinières surveillées. Ces estimations semblent cohérentes mais il est difficile de les comparer avec les données disponibles pour d'autres pays (Laabassi *et al.*, 2014; NAHMS, 2000; Newton *et al.*, 1999). En effet, les études publiées par ailleurs se sont focalisées sur la prévalence sérologique instantanée (en utilisant un seul résultat sérologique par animal) et non sur l'incidence, *a fortiori* annuelle. De plus, les modalités d'échantillonnage et les populations ciblées diffèrent selon les études et la prévalence est très généralement mesurée à l'échelle individuelle et non collective, telle que l'élevage ou la commune (Amat *et al.*, 2016).

3.5 Estimation de la sensibilité du DSR

La sensibilité du DSR apparaît relativement élevée. Toutefois, seuls certains équidés reproducteurs sont testés annuellement. L'hétérogénéité de la pression de surveillance selon les races a été prise en compte en sélectionnant pour l'analyse les cinq races de juments les plus fréquemment testées. Au total pour ces cinq races, seulement la moitié des juments reproductrices sont effectivement testées chaque année, car celles produisant des poulains non destinés à la course n'ont pas d'obligation de dépistage. Toutefois, la quasi-totalité des poulinières PS et AQPS sont ainsi testées et, pour les trois autres races, les élevages détenant des poulinières produisant des poulains de course ne détiennent généralement pas de juments produisant d'autres types de poulain. **Il peut donc être considéré que dans les élevages produisant des poulains de course, la très grande majorité des juments reproductrices présentes sont testées chaque année.**

Un défaut de sensibilité dû au test (VNT) et/ou à la gestion des données peut aussi être suspecté. Le VNT est la méthode de référence pour le dépistage de l'AVE et il n'existe pas d'autre méthode reconnue permettant de « certifier » la présence d'anticorps chez les équidés. **D'après la littérature scientifique disponible, il n'existe toutefois pas d'évaluation précise de sa sensibilité ni de sa spécificité.** Cependant, les sensibilité et spécificité des autres tests sérologiques développés récemment (ELISA et *microsphere immunoassay*) sont estimées en prenant le VNT comme référence. Par ailleurs, la fiabilité des résultats de laboratoires et la qualité des échantillons, des procédures de déclaration et de la saisie des données ont été récemment évaluées et jugées satisfaisantes (Amat *et al.*, 2015) et ne semblent pas être la cause d'un défaut de sensibilité générale du DSR.

Le choix des règles d'identification des séroconversions influence inévitablement les résultats. Une analyse de sensibilité des résultats obtenus aux variations de ces règles a été réalisée en utilisant une règle alternative plus sensible et moins spécifique. L'utilisation de cette règle alternative n'a pas entraîné de différence significative sur la sensibilité estimée du DSR, renforçant la confiance dans les règles retenues.

Bien que la sensibilité du DSR à l'échelle de la commune ait été estimée relativement élevée, elle est probablement aussi bonne, si ce n'est encore meilleure, à l'échelle élevage. En effet, la sensibilité du DSR est



proportionnelle au paramètre *Inc*, le taux d'incidence intra-foyer, estimé par le modèle en faisant le rapport entre le nombre de cas et le nombre de juments testées dans chaque commune. En moyenne, chaque commune testée pour l'AVE comporte trois élevages détenant au moins une jument reproductrice suivie pour la monte. Le dénominateur (nombre de juments testées) augmente nécessairement en passant de l'échelle élevage à la commune, mais c'est probablement moins le cas pour le numérateur (nombre de cas) : si l'on considère que le risque d'infection des reproducteurs est plus important par voie vénérienne (à l'occasion de déplacements pour la monte) que par voie respiratoire, la présence simultanée de plusieurs élevés infectés dans une commune semble en effet peu fréquente. L'utilisation de l'échelle commune plutôt qu'élevage a donc probablement conduit à une sous-estimation de *Inc* et donc de la sensibilité du DSR. L'accès à des données de localisation plus précises permettrait d'investiguer la sensibilité du DSR à l'échelle des élevages.

En conclusion, ces travaux montrent que le nombre de cas et foyers d'AVE n'est pas négligeable chez les reproducteurs français. Ils suggèrent aussi que plusieurs cas d'infection chez des juments correspondent à des réinfections, une situation non encore documentée à ce jour. La sensibilité du DSR apparaît élevée mais elle pourrait être mieux estimée à l'échelle des élevages si leur localisation précise était enregistrée. Les règles proposées pour identifier les séroconversions pourraient être utilisées pour estimer l'incidence globale de l'AVE en France à condition de réunir les données issues de tous les dispositifs de surveillance.

Remerciements

Nous remercions Benoit Durand (Anses, Laboratoire de santé animale, Maisons-Alfort) pour ses conseils méthodologiques, Xavier Dornier (IFCE, Observatoire économique et social, Pompadour) pour son expertise sur la démographie équine et Sandrine Vinatier (IFCE, SIRE, Pompadour) pour son appui technique.

Références

- Amat, J.P., Hendriks, P., Tapprest, J., Leblond, A., Dufour, B., 2015. Comparative evaluation of three surveillance systems for infectious equine diseases in France and implications for future synergies. *Epidemiology and Infection* 143, 3122-3133.
- Amat, J.P., Vergne, T., Tapprest, J., Ferry, B., Hans, A., Hendriks, P., Dufour, B., Leblond, A., 2016. Estimating the incidence of equine viral arteritis and the sensitivity of its surveillance in the French breeding stock. *Veterinary Microbiology* 192, 34-42.
- Balasuriya, U.B.R., Go, Y.Y., Maclachlan, N.J., 2013. Equine arteritis virus. *Veterinary Microbiology* 167, 93-122.
- Balasuriya, U.B.R., Maclachlan, N.J., 2004. The immune response to equine arteritis virus: Potential lessons for other arteriviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 102, 107-129.
- Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H., 2010. Veterinary epidemiologic research, second edition. VER inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada, 865 p.
- Go, Y.Y., Cook, R.F., Fulgencio, J.Q., Campos, J.R., Henney, P., Timoney, P.J., Horohov, D.W., Balasuriya, U.B.R., 2012. Assessment of correlation between in vitro CD3 + T cell susceptibility to EAV infection and clinical outcome following experimental infection. *Veterinary Microbiology* 157, 220-225.
- Hans, A., Marcé, C., 2012. Etat des lieux de l'artérite virale équine (AVE) en France en 2011. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* 54, 62-63.
- Ifce, 2015. Monte 2015 : Dépistages et vaccinations sur les étalons et juments selon les règlements des stud-books, 2 p.
- Laabassi, F., Amelot, G., Laugier, C., Zientara, S., Nasri, A.M., Hans, A., 2014. Prevalence of equine viral arteritis in Algeria. *Revue scientifique et technique de l'OIE* 33, 967-974.
- Maclachlan, N.J., Balasuriya, U.B.R., Hedges, J.F., Schweidler, T.M., Mccollum, W.H., Timoney, P.J., Hullinger, P.J., Patton, J.F., 1998. Serologic response of horses to the structural proteins of equine arteritis virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 10, 229-236.
- Nahms, 2000. Equine Viral Arteritis (EVA) and the U.S. Horse Industry. USDA, APHIS, VS, CEAH, National Animal Health Monitoring System, Fort Collins, CO, 40 p.
- Newton, J.R., Wood, J.L.N., Castillo-Olivares, F.J., Mumford, J.A., 1999. Serological surveillance of equine viral arteritis in the United Kingdom since the outbreak in 1993. *Veterinary Record* 145, 511-516.
- Spiegelhalter, D., Thomas, A., Best, N., Lunn, D., 2003. WinBUGS User Manual Version 1.4. <http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/wp-content/uploads/manual14.pdf>.
- Van Der Heijden, P.G.M., Cruyff, M., Van Houwelingen, H.C., 2003. Estimating the size of a criminal population from police records using the truncated Poisson regression model. *Statistica Neerlandica* 57, 289-304.
- Vergne, T., Del Rio Vilas, V.J., Cameron, A., Dufour, B., Grosbois, V., 2015. Capture-recapture approaches and the surveillance of livestock diseases: A review. *Preventive Veterinary Medicine* 120, 253-264.