

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 avril 2020

AVIS Complété **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à « l'évaluation du risque relatif à la dissémination du virus de la PPA par les cadavres et sous-produits animaux, et par les aliments pour animaux »

L'Anses a été saisie le 24 avril 2019 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : « *demande d'évaluation du risque relatif à la dissémination du virus de la PPA par les cadavres et sous-produits animaux issus d'animaux d'élevage/de la faune sauvage, en abattoir/élevage, et par les aliments pour animaux* ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Depuis le 13 septembre 2018, l'épizootie de peste porcine africaine (PPA) en Belgique se poursuit et progresse d'est en ouest, en suivant le continuum forestier dans lequel les premiers cadavres de sangliers ont été repérés. Au 1^{er} juillet 2019, la Belgique recensait 824 cas de PPA chez des sangliers. Dans ce contexte, les autorités françaises ont mis en place localement des mesures visant à prévenir l'introduction de sangliers infectés en France. En outre, selon les termes de la saisine : « *dans le cadre de la planification, les services de la DGAL se préparent, aux différents échelons, à la mise en œuvre des mesures de lutte contre la PPA afin d'éviter tout risque de dispersion du virus.* »

1. *Evaluation du risque de propagation de la PPA et donc de la contamination des suidés domestiques et sauvages via les eaux de nettoyage ou de lessivage par les eaux pluviales, de la persistance du virus de la PPA dans le sol et mesures préconisées*

A. Différentes situations peuvent être rencontrées dans les parcours plein air de suidés domestiques ou en parcs de chasse, ou en milieu naturel:

- présence d'animaux ne présentant pas de symptômes, mais porteurs et excréteurs du virus via les fèces et surtout l'urine ;*
- présence d'animaux porteurs du virus, exprimant la maladie et excréteurs du virus via les fèces et en particulier l'urine ;*
- présence des cadavres d'animaux ayant succombé à la maladie en forêt.*

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales par le ruissellement des lisiers (fèces + urines avec ou sans litière usagée) contaminés en dehors de ces parcours ? Est-ce que le virus ainsi transporté pourrait représenter une dose infectante pour d'autres animaux sensibles ? Est-ce que l'effet des UV pourrait permettre de réduire ce risque ? Des données sont-elles disponibles sur les distance et profondeur qui pourraient être effectives ?

Quel est le risque de contamination par fouissement d'un tel sol par les animaux?

B. En cas de détection en abattoir, en porcherie ou au sein du hall d'abattage, les eaux servant au nettoyage de ces installations sont très souvent canalisées vers un même exutoire par exemple avant d'intégrer les stations d'épuration dédiées à l'abattoir ou intégrées à une STEP¹ collective. En abattoir, ces eaux sont dégrillées afin de limiter la taille des particules qu'elles véhiculent à 6 mm.

Peut-on évaluer la persistance du virus dans un milieu liquide contenant peu de matière organique ? Le rapport de la saisine N°2018-SA-0237 fait état d'une persistance de 50 jours en été et 176 jours en hiver mais après contamination expérimentale d'une eau douce à 1/1000 et dans un contenant fermé enfoui dans le sol.

Un traitement à la chaux qui n'agirait que par action du pH>12 peut-il être jugé suffisant pour réduire ce risque ?

C- Entreposage de fumier mélangé avec de la chaux à l'extérieur suite à la décontamination d'un bâtiment

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales et/ou s'infiltrer dans le sol ?

Après quelle durée de stockage une application dans les sols d'un tel lisier chaulé serait envisageable ?

2. *Evaluation du risque de contamination par le virus de la PPA des animaux par les aliments pour animaux*

Via l'utilisation de produits sanguins dans des aliments composés pour les porcelets notamment, et pour le petfood, transformés conformément à la section 2 du chapitre II de l'annexe X du R4142/2011.

3. *Evaluation de la durée du vide sanitaire après décontamination au sein d'un élevage plein air ou en bâtiment après décontamination d'un foyer*

4. *Evaluation du risque de contamination par le virus de la PPA des animaux par les aliments pour animaux*

Via l'utilisation de matières premières végétales contaminées par la faune sauvage destinés à la fabrication d'aliments pour porc (fabrication à la ferme et industrielle) ;

5. *Evaluation des méthodes alternatives de traitement thermique du sol utilisées dans le domaine végétal tels que des désherbeur thermique à eau chaude, désherbeur thermique à air chaud pulsé, etc.* »

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

L'expertise collective a été réalisée par le groupe d'expertise collective d'urgence (Gecu) « PPA ». Trois rapporteurs supplémentaires ont été nommés compte tenu de leurs compétences en hydrogéologie, en nutrition animale, sur l'inactivation du virus de la PPA et en analyse de risque. Le Gecu PPA s'est réuni les 3, 23 et 29 avril, les 10 et 22 mai 2019, ainsi que le 28 juin 2019 et a

¹ STEP : station d'épuration

adopté ses conclusions en séance du 28 juin 2019. Sur la base de ces conclusions, un projet d'analyse et conclusions du Gecu a été rédigé par la coordination scientifique, qui a été relu et validé par le Gecu par voie télématique.

Pour le traitement de la présente saisine, le Gecu PPA a auditionné, les 3, 23 et 29 avril 2019, ainsi que le 28 juin 2019, la DGAL, la Référente Nationale Sous-produits animaux BISPE²/DGAL/MAA, l'UPChaux (Union des producteurs de chaux), ainsi que Vapran, APC Europe et ARC Nutrition, fabricants et utilisateur de produits sanguins.

En outre, ont été questionnés par voie télématique les instituts techniques IFIP et INAPORC sur les élevages de porcs plein air, ainsi que l'INRAE et l'Anses Ploufragan sur les quantités d'urines et de fèces émises par les porcs.

Un premier Avis a été adressé à la DGAL le 30 juillet 2019.

Suite à un complément d'expertise au moyen d'un modèle stochastique portant sur le risque de diffusion du virus de la PPA par les eaux pluviales, à partir d'un élevage de porcs infectés, ayant accès à un parcours extérieur, le présent Avis complété a été préparé par trois rapporteurs et discuté en CES SABA lors des séances des 10 décembre 2019 et 3 mars 2020. Il a été validé lors de la réunion du CES SABA du 31 mars 2020. Le complément à l'expertise initiale³ est développé au paragraphe 3.2.1.2.1

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GECU

3.1. Etat des connaissances en lien avec la saisine

3.1.1. Données relatives aux élevages de porc plein air en France

Afin d'apporter des éléments statistiques chiffrés sur l'élevage de porc plein air en France, les données concernant cet élevage sont reprises ci-dessous. Il est à noter que le cas particulier de l'élevage porcin en Corse n'a pas été pris en compte dans la présente évaluation.

L'élevage plein air est une modalité peu fréquente dans la production porcine française. Selon la dernière enquête SCEES (Service Central des Enquêtes et Études Statistiques) réalisée en 2008, il représentait 1,1% des élevages, soit 371 élevages, pour 34 520 élevages détenant des porcs en France. Ce pourcentage varie en fonction du type de production : pour les truies, le plein air est un peu plus représenté : environ 1,5% des élevages de truies. Les places en engraissement en plein air ne représentent que 0,3% des places d'engraissement, pourcentage voisin des 0,2% relevés en post-sevrage. Les porcs à l'engrais sont en groupe à l'extérieur, de même que les truies gestantes. Seules les truies allaitantes sont seules avec leur portée (source : Ifip).

Il faut noter qu'au sein des élevages de porcs qui déclarent au moins un stade en plein air, il existe une grande diversité d'organisation des ateliers, qui n'élèvent pas tous les stades en plein air. Actuellement, l'élevage plein air pourrait être un peu plus représenté en lien avec le développement de l'élevage biologique. Cependant, en engraissement, les porcs bio sont souvent en bâtiment (avec litière paillée). Le Gecu note qu'une mise à jour de ces données serait opportune. Elle permettrait notamment de prendre en compte les élevages classés confinés dont certains bâtiments sont ouverts. En outre, dans le cadre des enquêtes de biosécurité en élevage, cette mise à jour permettrait d'anticiper les mesures à prendre en cas d'émergence de la PPA.

En termes de surface occupée par les porcs plein air, il faut compter une truie plein air par hectare et 20 porcs à l'engrais par hectare. Des différences peuvent exister pour les races locales (gasconne, basque...), mais celles-ci représentent une très faible proportion des élevages de porcs.

² Bureau des Intrants et de la santé publique en élevage

³ Voir Suivi du Complément d'Avis en Annexe 9

Concernant le nombre de porcs présents dehors à un instant donné, un traitement des données réglementaires dans BDPORC, issues de la déclaration d'activité, a été réalisé par modélisation sur le sous-ensemble des sites actifs et qualifiés de « professionnels » (plus de 10 places d'animaux ou plus de 10 animaux produits par an) et qui déclarent au moins un stade en plein air. Sur la base de ce travail, pour un élevage plein air en France, l'effectif instantané moyen d'animaux détenus en extérieur est composé de 5 truies gestantes, 2 truies allaitantes et 24 porcelets sous la mère, 16 porcelets sevrés et 70 porcs à l'engraissement. Il convient de souligner que les écarts types sont importants⁴. Cette moyenne est fortement tirée vers le bas par un nombre important de petits élevages.

Concernant les densités / tailles de parcours elles varient notamment en fonction des cahiers des charges (AOP, Bio et Label Rouge). La réglementation environnementale définit des chargements maximum tenant compte des déjections des animaux, soit un chargement global théorique par stade physiologique. En pratique, avec la nécessité de laisser reposer pour reverdir les parcours, les chargements instantanés sur un parcours peuvent être plus importants, mais suivis de périodes d'inoccupation lors des rotations.

Les tailles des parcours peuvent être très variables en fonction des choix des éleveurs. Les éleveurs réalisent souvent des parcours de 1 à 4 ha, comportant jusqu'à une soixantaine d'animaux à engraisser (source : Inaporc).

3.1.2. Éléments de physiologie digestive et urinaire chez les porcs

Afin d'apporter des éléments chiffrés sur le phénomène de dilution et dispersion du virus de la PPA excrété dans les urines et les fèces, puis transporté *via* des eaux de ruissellement, le GECU a sollicité l'INRAE et le laboratoire Anses de Ploufragan sur la question des volumes d'urines et de fèces émises par un porc sur 24 heures.

Dans son avis 2015-SA-0061 relatif à l'abreuvement des porcs dans le cadre du bien-être animal, l'Anses avait repris une estimation du bilan des « entrées » et « sorties » d'eau, sur 24 heures, chez des porcs à différents stades physiologiques, notamment *via* les urines et les fèces (cf. tableau 1 ci-dessous).

Tableau 1 Estimation du bilan des « sorties » d'eau (L/24 h) *via* les urines et les fèces chez des porcs à différents stades physiologiques maintenant leur homéostasie en situation de températures non extrêmes (extrait du tableau 5 de l'avis Anses 2015-SA-0061)

	Porc en croissance ¹	Truie en gestation ²	Truie allaitante ³
Urine (L/24 h)	5,22	9,39	9,09
Fèces ⁴ (L/24 h)	0,96	0,74	2,60

¹Bilan calculé pour un porc de 60 kg prenant 1 kg/jour et consommant 2,6 kg d'aliment/jour.

²Bilan calculé pour une truie de 140 kg prenant 50 kg en gestation (27,2 kg de gain maternel et 22,8 kg de gain pour les fœtus et les enveloppes pour une taille de portée de 10 porcelets).

³Bilan calculé pour une truie de 160 kg perdant 10 kg pendant une lactation de 21 jours avec 10 porcelets prenant en moyenne 225 g/jour.

⁴En supposant que les fèces contiennent 65% d'eau

Les quantités de fèces + urine (= lisier) sont étroitement liées au poids, au niveau d'alimentation des animaux, au système d'alimentation, aux conditions thermiques dans les salles mais également au comportement des porcs.

Le tableau 2 liste quelques données, en moyenne, pour des porcs élevés sur caillebotis (différents sur litière) (Pabœuf 2011).

⁴ Ecarts types : 19,9 pour les truies gestantes, 6,8 pour les truies allaitantes, 46,6 en post-sevrage, 134,1 en engraissement. On considère qu'une truie allaitante est accompagnée de 12 ± 1 porcelets

Tableau 2 Eléments de physiologie pour des porcs élevés sur caillebotis, en fonction des stades physiologiques (d'après Pabœuf 2011)

Stade physiologique	Distribution de l'alimentation	Nombre de repas/jour	Durée de présence /jours	Température dans la salle /°C	Abreuvement /L d'eau/jour	Quantités de lisier (=fèces + urines) L/animal/jour
Cochettes avant la mise à la reproduction	Auge	1	21	18,6	7,1	4,4
Truie en gestation (sevrage/entrée en maternité)	DAC (distributeur d'aliment automatisé)	A volonté	115	21,3	7,6	4,7
	Auge	1		21,4	12,6	7,3
Truie et porcelets en maternité (11 à 12 porcelets par truie, y compris phase d'accoutumance avant la mise bas)	NR*	NR	NR	NR	28,5	23,6
Porcelets en post-sevrage (8 à 30 kg de poids vif - PV)	NR	A volonté	NR	26,2	1,9	1,1
Porcs en croissance (30 à 115 kg de PV)	Nourrisseur à sec	A volonté	NR	22,7	5,5	2,5
	A l'auge et en soupe	Rationnée	NR		5,7	3,0

*non renseigné

Il convient de souligner l'incertitude quant à la robustesse des données relatives au stade maternité, les auges étant régulièrement vidées : il y a donc très probablement une confusion entre la distribution et consommation d'eau.

3.1.3. Données relatives à l'épidémiologie du virus de la PPA

La peste porcine africaine est une maladie hémorragique hautement contagieuse qui touche les porcs, les sangliers d'Europe et d'Amérique. Toutes les classes d'âge sont également sensibles à la maladie (OIE, 2020). Actuellement, les souches de virus de la PPA de génotype II hautement pathogènes dominent largement chez le porc et le sanglier en Europe, induisant principalement des formes aiguës et des taux de létalité de 91 à 100% (Gallardo *et al.* 2018). Cependant, des souches atténuées de virus de la PPA de génotype II ont été isolées de sangliers constituant un cluster isolé ayant survécu à l'infection, en Estonie en 2015 (Nurmoja *et al.* 2018) et en Lettonie où une souche atténuée et non hémadsorbante a pu être isolée en 2017 (Gallardo *et al.* 2019).

3.1.3.1. Excrétion du virus de la PPA

Dans son avis 2018-SA-0251 (Anses 2018), l'Anses indique que « l'excrétion du virus de la PPA peut se faire par toutes les voies, notamment les fèces, les urines et les écoulements nasaux. Le sang constitue la matière la plus virulente, avec une virémie précoce et rapidement élevée (Guinat *et al.* 2014, Spickler 2015). Des titres élevés en virus de la PPA ont été trouvés dans le sang (de 10^6 à $10^{8,7}$ HAD₅₀/mL)⁵, titres très largement supérieurs aux doses minimales infectieuses, et donc susceptibles de contaminer un grand nombre de porcs, y compris par voie oronasale. Des titres plus faibles, avec détection intermittente, ont été trouvés dans les échantillons nasaux (de 10^2 à 10^4 HAD₅₀/mL) et rectaux (de 10 à 10^2 HAD₅₀/mL) (Davies *et al.* 2017, Gallardo *et al.* 2017, Guinat *et al.* 2014, Guinat *et al.* 2016 reprenant ses données de 2014 et celles d'autres études). (...) Une

⁵ HAD₅₀ :50% haemadsorbing doses : doses pour lesquelles une hémadsorption est observée dans 50% des cupules

contamination environnementale massive est possible lors de saignement, par exemple lors d'autopsie, en cas de blessure lors de bagarre, via une diarrhée hémorragique (Spickler 2015). »

Après infection expérimentale avec les souches atténuées détectées en Estonie en 2015, Gallardo *et al.* (2018) rapportent des formes cliniques aiguës, subaiguës et chroniques, avec une virémie plus faible et intermittente et la survie de certains porcs. Dans une autre étude, pendant les phases subcliniques ou chroniques de la maladie, la présence de virus infectieux dans les fèces a été observée chez 10% des animaux trouvés positifs (par qPCR et isolement viral) *via* le sang, *vs* 50-80% des cas dans la phase aiguë de la PPA. Le niveau d'excrétion virale par les animaux présentant des formes chroniques est plus faible que celui des animaux en phase aiguë, en revanche la durée d'excrétion est plus longue (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012). En outre, durant la période d'incubation, l'excrétion virale est inférieure ou au plus égale à l'excrétion durant la phase symptomatique (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012, de Carvalho Ferreira *et al.* 2013, Guinat *et al.* 2014).

3.1.3.2. Diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement

Une recherche bibliographique a été conduite sur la diffusion du virus de la PPA dans l'environnement avec les mots clés suivants : peste porcine africaine, *African swine fever virus* ASFV, surface water flowage. Dans les bases de données Science Direct et biblioplanets, cette recherche a donné environ 250 publications, quelques 75 résumés ont été lus puis environ 20 articles ont été sélectionnés pour en extraire des informations pertinentes.

Très peu de travaux ont étudié la diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement. C'est surtout la survie dans l'environnement hydrique qui a été suivie. Dans l'eau claire (<1g/l de sels et <7mg/L de carbone organique total), le virus ne peut survivre de manière prolongée. En présence de particules (organo-minérales issues des complexes argilo-humiques des sols et formations superficielles), elle peut être plus longue. Dans l'avis 2018-SA-0237 (Anses, 2019), l'Anses a fourni les éléments de réponse suivants : « *Du virus a survécu pendant 50 jours en été et 176 jours en hiver dans un échantillon d'eau douce (provenant d'un lac) contaminée artificiellement par du sang de porc infecté (dilution 1:1000) et enfoui dans le sol dans un contenant en verre, à une profondeur de 12 cm (EFSA Panel on Animal Health Welfare 2014, Chenais et al. 2019, communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964)*⁶. Dans une autre étude, de l'eau contaminée avec un titre viral de $10^{5.5}$ HAU₅₀/cm³ s'est révélée positive en PCR temps réel après 60 jours de stockage entre 22 et 25°C, mais aucune particule infectieuse n'a pu être isolée en culture cellulaire (Sindryakova *et al.* 2016). ». Si l'analyse des temps de survie dans l'eau n'exclut pas une diffusion du virus, les articles avancent les taux de dilution très importants dans l'eau de ruissellement pour justifier l'absence de diffusion d'une charge infectieuse.

Des cas de PPA ont été rapportés à proximité de points d'eau chez des porcs domestiques (Gulenkin *et al.* 2011). En Pologne, les premiers sangliers ont été trouvés morts au bord de l'eau (Markowska-Daniel *et al.* Réunion des LNR⁸ PPA, Madrid 2 juin 2014). Les experts notent que les sangliers malades, donc en hyperthermie, pourraient être attirés par les points d'eau pour s'abreuver et se rafraîchir, ce qui pourrait favoriser une diffusion locale du virus de la PPA *via* ces points d'eau où peuvent se succéder différentes compagnies de sangliers.

Le Gecu souligne que des données épidémiologiques européennes, depuis plusieurs années, n'apportent pas d'éléments en faveur d'une transmission à distance du virus de la PPA le long de cours d'eau, suggérant que ce mode de transmission ne joue pas un rôle prépondérant dans l'épidémiologie de la PPA. Les experts notent que le rôle du Danube dans la diffusion de la

⁶ La publication originale de Kovalenko *et al.* 1964 étant en russe, un document de synthèse en anglais préparé par K. Depner, en mai 2018 a été gracieusement fourni par l'EFSA

⁷ HAU₅₀ : 50% haemadsorbing unit – unité hémadsorbante 50; HAU₅₀ et HAD₅₀ sont équivalentes

⁸ Laboratoire national de référence

PPA en Roumanie, repris dans un avis EFSA à dire d'experts, n'a pas été démontré. Hormis la propagation de la PPA d'origine anthropique à grande distance, les données épidémiologiques mentionnent une progression de la PPA lente, de proche en proche, de l'ordre de 1 à 2 km par mois (EFSA 2015), en lien avec la présence de cadavres de sangliers atteints de PPA, le type de paysage, les mouvements de sangliers et la densité des populations de sangliers (*cf.* avis Anses 2018-SA-0218). De récents travaux de modélisation, basés sur la date de détection des cadavres de sangliers en Belgique, ont conduit à estimer une progression moyenne des cas de 2,9 km/mois, avec des variations importantes d'un site à l'autre, entre 0,5 et 7,7 km/mois, du fait notamment des variations paysagères et de la pression de surveillance (Munoz *et al.* 2019). D'autres travaux de modélisation en Belgique ont estimé la vitesse moyenne de propagation à 1,9 km/mois sur la période septembre 2018 - avril 2019, avec cependant une forte anisotropie⁹, *i.e.* une vitesse moyenne de 2,6 km/mois dans le sens est-ouest (celui qui intéresse le plus la France) et de 0,6 km/mois dans le sens sud-nord (Linden, Symposium Santé animale, Sciensano, Bruxelles, 7 mai 2019, basé sur les travaux de Gilbert et collaborateurs).

Les experts notent que, parmi les mécanismes sous-jacents de la diffusion dans l'environnement, outre la question des eaux de ruissellement, se pose la question de la contribution du comportement de nécrophagie par d'autres espèces sauvages (carnivores opportunistes et, sur place, par la faune détritivore locale). Le rôle potentiel de transmission du virus de la PPA n'a été investigué que pour les larves de *Calliphoridae*, l'étude réalisée concluant à une inactivation du virus dans un délai de 10 jours au sein des larves de ces insectes et à l'absence de transmission aux *Suidae* (Forth *et al.* 2018). Par ailleurs, aucune progression par saut de la PPA n'a été constatée sur de moyennes distances en Estonie (où les foyers porcins ont été relativement bien maîtrisés), ni dans la forêt de Bieloweja (Pologne et Russie), en dépit de la présence de grands carnivores (loup, ours brun notamment) et de petits carnivores et rapaces. Ce résultat tend à montrer que le rôle des carnivores et espèces nécrophages n'est pas déterminant dans la transmission du virus en milieu naturel.

3.1.3.3. Dose infectieuse de virus de la PPA en conditions naturelles

Afin de répondre à la question 1.A. de la saisine, une recherche bibliographique a été réalisée pour identifier les articles scientifiques susceptibles d'apporter des éléments sur la dose de virus de la PPA susceptible d'infecter un porc ou un sanglier dans les conditions naturelles.

Les mots clés ont été définis par le Gecu et les requêtes ont été effectuées, selon la méthode PICO recommandée par l'EFSA (2010) et le GT MER¹⁰ de l'Anses (Anses 2016). De cette recherche bibliographique, il ressort 198 articles (y compris la littérature grise) identifiés par mots clés et par la méthode « boule de neige ». Un tri a permis de sélectionner 75 articles, qui ont été répartis entre les experts. *In fine*, le nombre d'articles pertinents retenus par les experts était de 27.

Sur la base de ces éléments bibliographiques et de l'expérience des experts, le Gecu a comparé les différentes doses infectieuses et voies d'administration utilisées au regard des modalités de contamination *in natura*.

Il convient de souligner en préambule que les différentes unités (TCID₅₀, HAD₅₀, HAU₅₀) utilisées pour quantifier les charges virales de la PPA correspondent à l'observation d'un effet (effet cytopathique ou hémadsorption) sur un tapis cellulaire, et non au dénombrement de particules virales. Les unités HAD₅₀, HAU₅₀ et TCID₅₀ peuvent être considérées comme équivalentes, la différence d'expression dépendant du type de lecture de l'effet du virus sur un tapis cellulaire¹¹ (Carrascosa, Bustos et de Leon 2011). A noter qu'on ne connaît pas précisément le nombre de

⁹ Anisotropie : caractérise un mouvement qui n'est pas homogène dans toutes les directions

¹⁰ GT MER : groupe de travail sur la méthodologie en évaluation de risques, mené sous l'égide du conseil scientifique de l'Anses

¹¹ Des pistes de recherche de type impédancemétrie devraient permettre d'être plus précis dans le futur.
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01373145/document>

particules virales physiques à l'origine d'une unité TCID₅₀, HAU₅₀ ou HAD₅₀. En outre, l'isolement du virus sur cultures cellulaires est moins sensible qu'un bioessai sur porc. Il est en effet possible d'infecter un porc avec un inoculum pour lequel le virus n'a pas pu être isolé, et donc titré (Le Potier communication personnelle).

Les points suivants ressortent de cette analyse bibliographique :

- comme précisé au début du paragraphe, le porc et le sanglier ne semblent pas se comporter de façon différente au regard de l'infection par le virus de la PPA en termes de dose infectieuse ;
- dans les conditions naturelles, outre la transmission directe par contact entre suidés, la voie de contamination indirecte principale est la voie oronasale par ingestion d'eau, d'aliments ou par fuissement ;
- des études expérimentales ont rapporté la contamination de porcs et/ou de sangliers par des voies rencontrées en conditions naturelles avec des doses très faibles de virus de la PPA : l'infection symptomatique a été induite par administration :
 - à des porcs, par voie intranasale, de 4 log₁₀ TCID₅₀ de la souche Pol2015 (Olesen *et al.* 2017) ;
 - à des porcs et des sangliers, par voie oronasale, à des titres très faibles (Pietschmann *et al.* 2015). Dans cette publication, il existe une incertitude quant à la charge virale de la souche Armenia08 inoculée : l'article ne permet pas de trancher entre 100 vs 200 et 10 vs 20 HAU, correspondant *in fine* à 25 vs 50 et à 3 vs 6 HAU (après contrôles répétés du titrage obtenu initialement par dilution). Compte tenu des difficultés pour titrer des doses aussi faibles de manière répétable, le Gecu s'interroge sur la charge virale effectivement administrée aux animaux. Cependant, que ce soit avec 25 HAU ou 3 HAU, ces doses très faibles ont permis d'infecter très rapidement au moins un animal¹².
- d'autres voies ont été utilisées, plus souvent expérimentalement, en particulier la voie intramusculaire, sous-cutanée ou intradermique. Ces voies n'ont pas été retenues car elles ne correspondent pas aux conditions naturelles d'infection considérées dans le présent avis.
- une publication récente (Niederwerder *et al.* 2019) évoque une possible infection de porcs *via* la prise orale de liquide (milieu de culture) contenant une dose beaucoup plus faible, à savoir 1 TCID₅₀ de la souche Georgia 2007/1. Il s'agit de la seule étude actuellement disponible sur la dose infectieuse *per os* du virus de la PPA sévissant actuellement en Belgique. Pour cette raison, cette publication a fait l'objet d'une analyse approfondie présentée en annexe 4.

Les auteurs s'appuient principalement, pour leur modèle, sur un réplicat expérimental où les trois porcs exposés se sont infectés. Cependant, avec le second réplicat incluant cinq porcs exposés à la même dose, aucun ne s'est infecté, ce qui soulève la question de la répétabilité de l'expérimentation. En outre, la variabilité des titres viraux lors d'expérimentations interroge sur le niveau de précision effectif, en particulier d'un titre faible en TCID₅₀. Ainsi, la question se pose de savoir si les porcs ont effectivement été exposés à 1 TCID₅₀.

Plus globalement, il est également à noter que tout résultat issu d'une analyse bayésienne avec un faible nombre d'observations est très dépendant des priors considérés (Sanogo *et al.* 2014).

En outre, le Gecu relève quelques points d'attention quant aux résultats de cette étude (manque d'information sur les priors, absence de présentation d'analyse d'incertitude et de sensibilité... cf. annexe 4).

¹² Dans les deux groupes testés, un des sangliers du groupe I (25 HAU) et un dans le groupe II (3 HAU) se sont infectés très rapidement et ont ensuite contaminé les autres animaux des deux groupes

En conclusion, après analyse de la bibliographie relative à la dose infectieuse de virus de la PPA par voie intranasale ou oronasale, les doses les plus faibles identifiées (pour des souches différentes) sont : $4\log_{10}$ HAD₅₀ et inférieures à 10 TCID₅₀. Il n'est pas possible à ce stade, de retenir avec certitude une seule valeur de dose minimale infectieuse pour la souche Georgia 2007/1, compte tenu du nombre très faible de publications disponibles pour les voies intranasale et oronasale.

Le Gecu souligne toutefois le niveau élevé des incertitudes quant à ces résultats expérimentaux.

Ces derniers devraient ainsi être confirmés par d'autres travaux.

Enfin, des doses infectieuses (par expérimentation et/ou modélisation) aussi faibles que 1 ou 3 HAD₅₀ ne semblent pas en rapport avec les situations épidémiologiques observées (Nurmoja *et al.* 2018) et les travaux de modélisation (Rose communication personnelle), mais d'autres facteurs (exposition, sensibilité individuelle, âge...) peuvent influencer également le patron épidémiologique de la PPA.

Dans ce contexte d'incertitude, le Gecu propose de mener la présente évaluation selon deux scénarios, dont le second ne semble pas en rapport avec la situation épidémiologique observée sur le terrain (mais est évalué à titre de pire scénario) : dose minimale infectieuse de $4\log_{10}$ HAD₅₀ et dose minimale infectieuse inférieure à 10 TCID₅₀.

3.1.4. Données relatives à l'inactivation du virus de la PPA

Concernant l'inactivation du virus de la PPA, l'Anses a apporté des éléments dans son avis 2018-SA-0237 (Anses 2019). Il en ressort que peu de publications expérimentales portent sur l'inactivation du virus de la PPA par des procédés physico-chimiques. D'après l'analyse des publications disponibles,

- l'inactivation par la chaleur est efficace, en appliquant des couples temps/température adaptés à la souche et la matrice considérées. A noter qu'aucune publication ne fournit d'éléments relatifs au chauffage de la matrice sang.
- l'inactivation du virus par pH basique ne paraît pas être 100% efficace et il n'existe pas d'étude expérimentale permettant de valider la décontamination de différentes matrices par pH acide bien que le virus semble y être sensible.

Plusieurs études ont rapporté la diminution importante du titre viral avec les méthodes basées sur le pH, avec toutefois persistance d'une fraction résistante de virus. Par exemple, Plowright et Parker (1967) ont observé une fraction résistante comprise entre 2 et $3 \log_{10}$ HAD₅₀/mL (tableau 3).

L'association pH/température pendant une durée *ad hoc*, semble constituer également un moyen efficace pour diminuer la charge virale.

Concernant les UV, l'Anses a indiqué que « l'efficacité des irradiations UV, dans les milieux perméables aux UV, serait à confirmer et à explorer sur d'autres supports et en fonction des paramètres d'ambiance (poussières, humidité, courant d'air, température, etc.) et de la lampe (usure, empoussièrement, etc.) ». Concernant l'utilisation de biocides, l'Anses (2019) a conclu à l'intérêt de plusieurs substances actives, seules ou en association. Néanmoins, leur utilisation dans le contexte de la présente saisine semble limitée.

Quelle que soit la méthode utilisée, il convient d'en vérifier l'efficacité compte-tenu des variations liées au titre viral, à la souche virale, à la nature de la matière organique présente, etc. Des charges virales résiduelles peuvent en effet constituer une source de contamination pour des porcs ou sangliers. Ce point sera discuté dans les réponses aux questions au regard de la dose minimale infectieuse et de l'association éventuelle de cette méthode d'inactivation avec d'autres mesures de gestion.

. Tableau 3 Données de la littérature sur l'inactivation du virus de la PPA par le pH (Anses 2019 reprenant (Plowright et Parker 1967))

	pH basique	pH acide
Résultats pour la souche française F86	Titre de départ de 8,5 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL Diminution importante du titre pour un pH >9,1 Fraction résistante avec un titre autour de 2,5 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL après 8 j pour les pH entre 9,5 et 12,6	Titre de départ de 7,5 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL Diminution importante du titre pour un pH <3,9 Fraction résistante avec un titre entre 2 et 3 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL après 21h pour les pH entre 3,1 et 3,4
Résultats pour la souche Tengani du Malawi	Titre de départ de 8,5 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL Diminution importante du titre pour un pH >10,8 Fraction résistante avec un titre autour de 2 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL après 8 j pour les pH entre 10,8 et 12,6	Titre de départ de 8,2 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL Diminution importante du titre pour un pH <3,4 Fraction résistante avec un titre entre 2 et 3 log ₁₀ HAD ₅₀ /mL après 21h pour les pH entre 3,1 et 3,4
Conclusions de l'étude	Seule la souche française est testée avec des pH supérieurs à 12,6. Après 50 h à pH 13,4, le virus n'est plus détecté. L'adjonction de sérum de porc ralentit cette inactivation	Seule la souche française est testée avec des pH inférieurs à 3,4. Le virus n'est plus détecté à des pH inférieurs à 2,7 après plus de 4 h.

3.2. Evaluation du risque de propagation du virus de la PPA et donc de contamination des suidés domestiques et sauvages *via* les eaux de nettoyage ou de lessivage par les eaux pluviales, de la persistance du virus de la PPA dans le sol et mesures préconisées

En préambule, il convient de souligner que, si cette question porte spécifiquement sur le risque de contamination des suidés *via* l'environnement qui serait contaminé, la transmission du virus de la PPA entre suidés domestiques et/ou sauvages (en l'absence d'insectes vecteurs) résulte très majoritairement de contacts directs entre animaux vivants et/ou avec des cadavres de suidés morts de PPA. A ce titre, la nécrophagie intraspécifique constitue une modalité particulière de contact direct. Ces contacts directs ne seront pas évalués dans la présente saisine.

3.2.1. Evaluation du risque de diffusion de la PPA via les eaux de ruissellement d'une zone infectée.

Selon les termes de la saisine, « Différentes situations peuvent être rencontrées dans les parcours plein air de suidés domestiques ou en parcs de chasse, ou en milieu naturel :

-présence d'animaux ne présentant pas de signes cliniques, mais porteurs et excréteurs du virus via les fèces et surtout l'urine ;

-présence d'animaux porteurs du virus, exprimant la maladie et excréteurs du virus via les fèces et en particulier l'urine ;

- présence des cadavres d'animaux ayant succombé à la maladie en forêt.

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales par le ruissellement des lisiers (fèces + urines avec ou sans litière usagée) contaminés en dehors de ces parcours ? Est-ce que le virus ainsi transporté pourrait représenter une dose infectante pour d'autres animaux sensibles ?

Est-ce que l'effet des UV pourrait permettre de réduire ce risque ?

Des données sont-elles disponibles sur les distance et profondeur qui pourraient être effectives ?

Quel est le risque de contamination par fouissement d'un tel sol par les animaux ? »

3.2.1.1. Méthode utilisée par le GECU

Une évaluation du risque de diffusion par les eaux de ruissellement a été réalisée en estimant la dilution de la charge virale par ce ruissellement à partir d'un élevage de porcs en plein air contaminé. Cette estimation a ensuite été comparée qualitativement aux autres modalités de transmission de la PPA *via* l'environnement. Cette démarche a été adoptée pour les différentes situations décrites dans la question A.

Pour ce faire, le Gecu a élaboré des schémas évènementiels ou scénarios pour (1) les porcs en élevages plein air et (2) les sangliers en parc de chasse ou dans le milieu naturel. Ces scénarios visent à identifier/recenser les modalités envisageables d'excrétion du virus de la PPA par des porcs/sangliers vivants ou morts, de persistance dans l'environnement, de diffusion *via* les eaux de ruissellement et de contamination d'autres porcs/sangliers.

Pour chacun de ces schémas, le Gecu a ensuite identifié, pour chaque étape et de manière qualitative, les situations les plus probables compte tenu des connaissances disponibles présentées dans le chapitre 3.1 précédent. Sur les schémas, l'importance relative des voies de diffusion se traduit par des flèches noires plus ou moins épaisses allant jusqu'à des flèches discontinues pour les moins probables.

Les experts ont également formulé quelques recommandations en termes d'option de gestion résultant de l'évaluation de risque conduite.

3.2.1.2. Elevages de porcs plein air

3.2.1.2.1. Estimation de la diffusion du virus de la PPA par les eaux de ruissellement

a) Approche déterministe

Concernant la question de l'éventuelle diffusion environnementale du virus de la PPA à partir de l'élevage et *via* les eaux de ruissellement, une simulation statistique de la diffusion de la charge virale dans l'environnement a été réalisée à partir des données d'exploitations concernant la densité des porcs élevés en extérieur (entre 6 à 35 animaux/ha) et le volume des fèces et urines excrétés (entre 4 et 24 L/animal/jour), cf figure 1.

Afin de s'affranchir des effets de taille dus aux différentes caractéristiques des exploitations (densité, superficie), c'est la charge spécifique qui a été calculée, à savoir la charge virale mesurée en TCID₅₀/ha/j.

Cette charge est ensuite diluée par le milieu *via* les eaux de ruissellement quand il y en a. En effet, les eaux de ruissellement existent lorsque les conditions hydrologiques le permettent ; celles-ci dépendent de la saturation des sols en eau (fonction des épisodes pluvieux précédents), de la température, de la saison, de l'occupation des sols, de l'état de la végétation, de la vitesse d'infiltration des eaux dans le sol, de l'intensité et du volume de pluie et de la pente.

Ces conditions complexes et multiples rendent vaine l'évaluation des volumes de ruissellement diluant la charge virale lors de chaque épisode pluvieux et pour chaque parcelle. Ainsi, il a été calculé une lame d'eau ruisselée diluant la charge virale en s'affranchissant des processus lui donnant genèse.

Deux scénarios sont envisagés : 1 mm de lame d'eau ruisselée génère 10⁷ mL/ha, et 50mm de lame d'eau ruisselée, correspondant selon les climats à un gros orage estival ou à un cumul de pluie hivernal conséquent, en génère 5*10⁸ mL/ha.

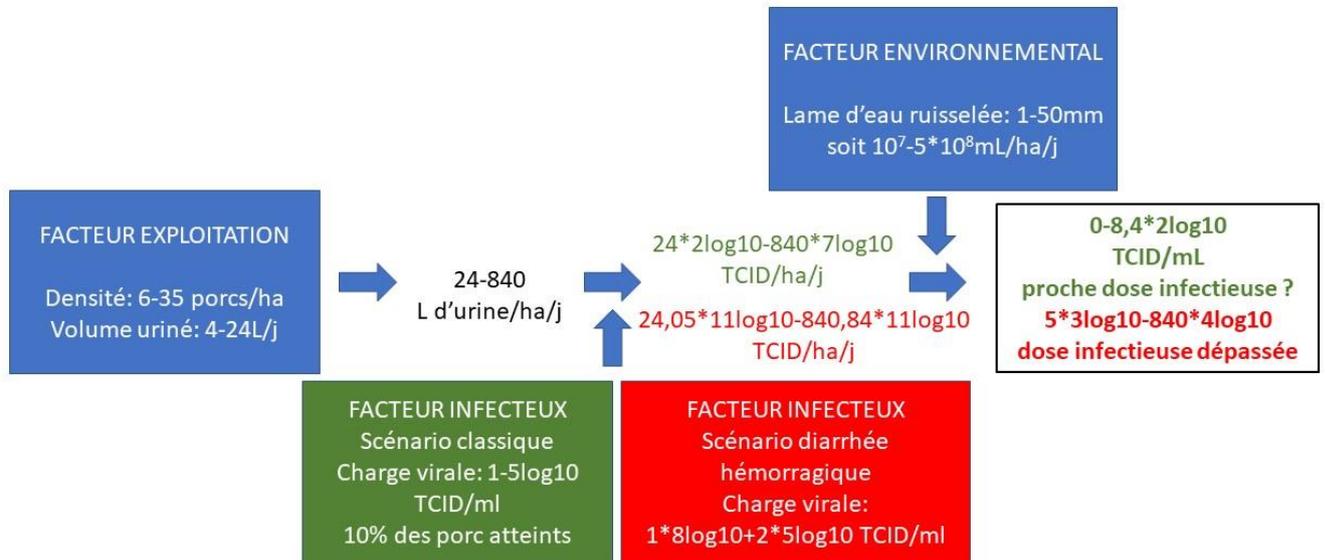
Ce facteur environnemental va venir diluer plus ou moins fortement la charge virale issue du facteur infectieux dont deux cas de figure ont été étudiés :

- un 1^{er} (en vert, figure 1) sur la base de cas observés classiquement ; à savoir 10% de la population de porcs touchée excrétant entre 1 et 10⁵ TCID₅₀/mL,
- un 2^{ème} (en rouge, figure 1) avec 3 porcs présentant une diarrhée hémorragique à 10⁸ et 10⁵ TCID₅₀/mL.

Ces charges virales sont ainsi diluées respectivement par 10⁷ (pour une lame d'eau de 1mm) et 5*10⁸ mL d'eau ruisselée/ha/j (pour une lame d'eau de 50mm).

Il en résulte une charge virale dans l'environnement qui est ensuite comparée aux doses infectieuses retrouvées dans la littérature. **Les résultats montrent une charge virale variant entre 0 et 3 log₁₀ TCID₅₀/mL dans le 1^{er} cas de figure et entre 3 et 6 log₁₀ TCID₅₀/mL dans le 2^{ème} cas de figure** (cf. figure 1).

Figure 1. Résultats de la simulation statistique de la diffusion de la charge virale dans l'environnement



Selon la dose minimale infectieuse retenue, le ruissellement estimé par cette méthode pourrait conduire à diffuser le virus de la PPA à partir d'un élevage de porcs plein air contaminé, la dilution calculée n'atteignant pas des valeurs toujours inférieures à la dose minimale infectieuse.

Les experts soulignent cependant que cette méthode déterministe ne tient pas compte du caractère stochastique, tant de l'excrétion virale que du ruissellement effectif et repose sur l'évaluation de scénarios prenant en compte des valeurs extrêmes, à savoir :

- 100% des porcs infectés excrètent une charge virale donnée
- 100% des pluies sont efficaces¹³

Cette approche, adoptée dans un premier temps en urgence, ne permet pas d'analyser la distribution des probabilités de survenue de ces événements et la combinaison de celles-ci.

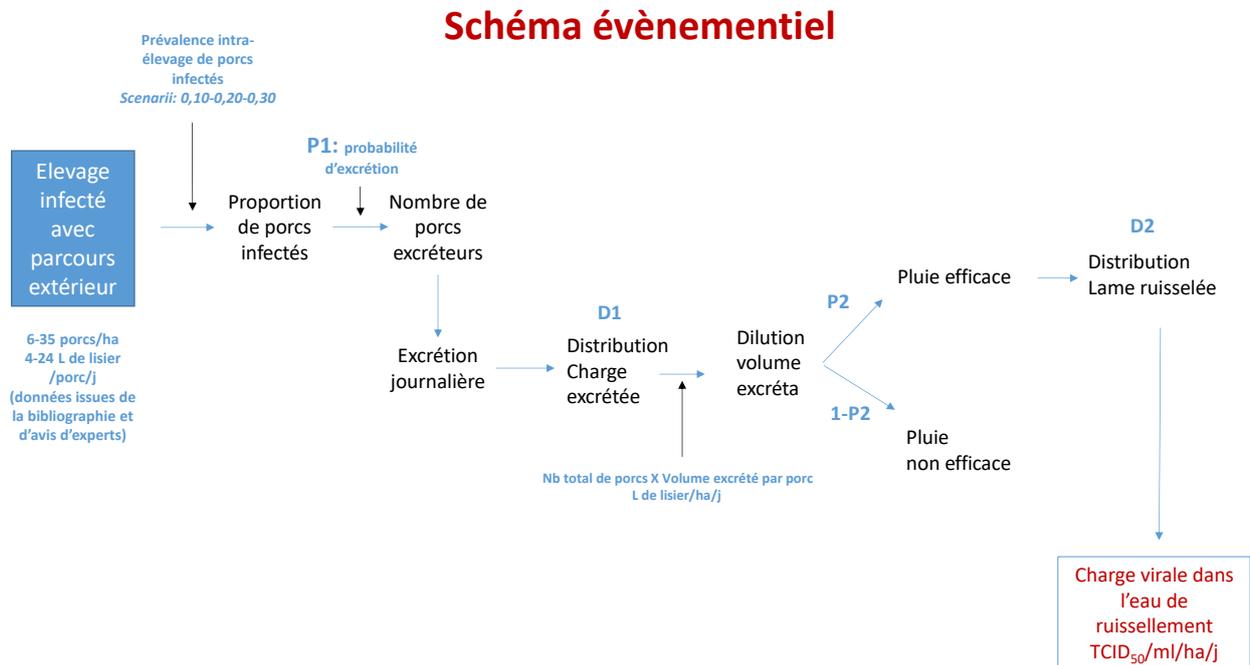
b) Approche stochastique

Afin de compléter cette approche déterministe, un travail de modélisation a été réalisé dans un second temps. L'approche stochastique adoptée vise à modéliser la diffusion de la charge virale par une distribution des probabilités de l'excrétion du virus par les porcs ainsi que la dilution par les eaux de ruissellement, en prenant en compte leur variabilité.

Le schéma évènementiel de la figure 2 représente l'ensemble des valeurs à intégrer pour établir le modèle.

¹³ Pluie efficace : 100% du volume de pluie se transforme en volume ruisselé, contribuant à la diffusion virale.

Figure 2 : Modélisation de la diffusion du virus de la PPA à partir d'un élevage infecté, via les eaux de ruissellement



Dans ce schéma, un élevage de porcs ayant accès à un parcours extérieur est trouvé infecté.

- Trois scénarios sont envisagés par les experts pour le nombre de porcs infectés au moment de la découverte de l'infection : une prévalence intra-élevage de 10%, 20% ou 30%.
- Sur cette proportion de porcs infectés, tous n'ont pas la même probabilité P_1 d'excréter du virus (Guinat *et al*, 2014).
- De même, les charges virales excrétées ne sont pas constantes au cours du temps (Guinat *et al*, 2014). Cette variabilité est exprimée par la distribution D_1 de la charge virale excrétée pour un porc infecté.
- Cette charge virale excrétée se retrouve ensuite diluée par le lisier de l'ensemble des porcs de l'élevage (infectés ou non, excréteurs ou non), ce phénomène étant désigné dans la figure 2 par « dilution volume excréta ».
- La dilution de la charge virale par l'eau de pluie intervient ensuite, si la pluie est efficace (probabilité P_2).
- Toutes les pluies efficaces ne génèrent pas la même lame de pluie ruisselée. Cette variabilité est exprimée par la distribution D_2 de la lame ruisselée.
- Le niveau de charge virale présente dans l'eau de ruissellement est issu de l'ensemble de ces étapes.

L'ensemble des données nécessaires à l'établissement du modèle est résumé dans le tableau 4 ci-après

Tableau 4 : Données utilisées dans le modèle stochastique de diffusion du virus de la PPA à partir d'un élevage infecté via les eaux de ruissellement.

Paramètre	Description	Source des données	Distribution ou valeur du paramètre retenu pour le modèle
P1	Probabilité d'excrétion	Guinat et al., 2014	Uniforme(0.17, 0.25)
D1	Distribution charge virale excrétée (/porc/g excreta)	Guinat et al., 2014	LNORM(1.16, 0.22)
NtotalPigs	Nombre de porcs / ha	Experts professionnels	Uniforme(6-35)
VolExcreta	Volume d'excreta (lisier)/porc/J	Experts professionnels, physiologistes	Uniforme(4-24)
P2	Probabilité de pluie efficace	données SAFRAN sur les 50 dernières années	0,495
D2	Distribution lame de pluie ruisselée	données SAFRAN sur les 50 dernières années	LNORM (0.583 , 1.595)

Le modèle est constitué de deux modules consécutifs, l'un relatif à l'excrétion par les porcs, l'autre relatif à l'effet du ruissellement (figure 3).

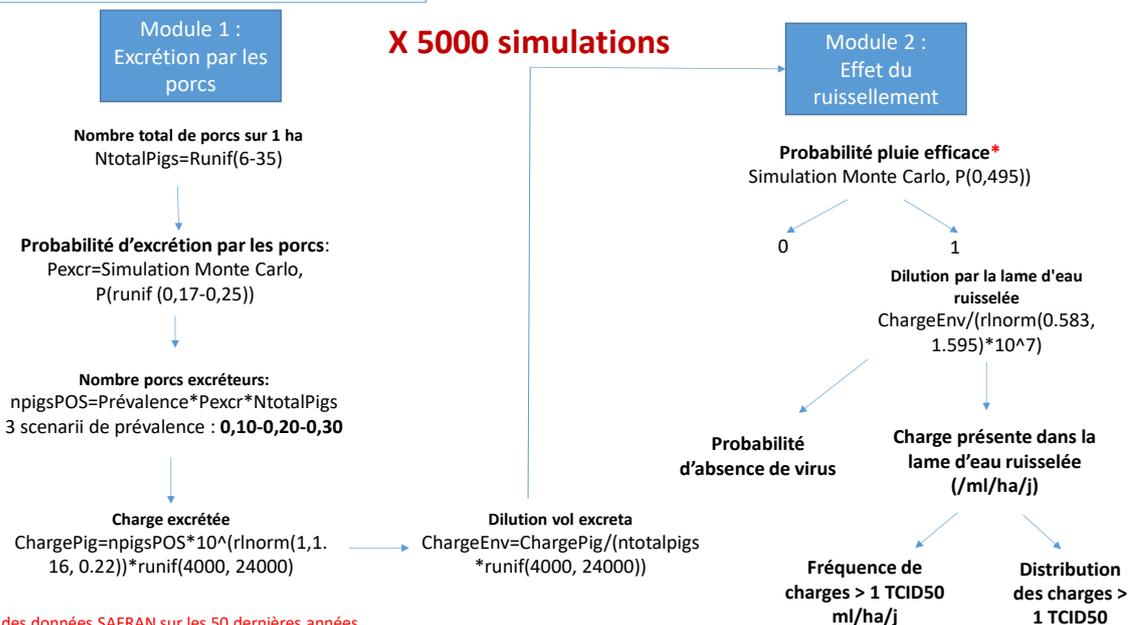
Pour exprimer la distribution des charges virales dans les eaux de ruissellement, deux sorties du modèle ont été définies :

- La fréquence des charges supérieures à 1 TCID₅₀/mL/ha/j (représentée au tableau 1)
- La distribution des valeurs des charges supérieures à 1 TCID₅₀/mL/ha/j (représentée en figures 12-13, annexe 5)

De même que pour l'approche déterministe, deux valeurs de doses minimales infectieuses ont été envisagées, pour tenir compte des données rencontrées dans la bibliographie (cf 3.1.3.3) : 1 TCID₅₀ et 10⁴ TCID₅₀.

Figure 3 : Détail des deux modules appliqués pour déterminer la charge virale présente dans les eaux de ruissellement, à partir d'un élevage de porcs infectés, ayant accès à un parcours plein air.

Détail des simulations réalisées



* Analyse des données SAFRAN sur les 50 dernières années.

Le tableau 5 présente les statistiques descriptives de la fréquence des charges virales pour les 3 scénarios envisagés en matière de prévalence intra-élevage : 10%, 20% et 30%.

Tableau 5 : statistiques descriptives de la fréquence des charges virales dans l'eau ruisselée selon les scénarios de prévalence d'infection

	Scénario : 10% prévalence	Scénario : 20% prévalence	Scénario : 30% prévalence
Fréquence de valeurs > 1	0,002%	54,1%	57,9%
Fréquence de valeurs > 1 et <100	0,002%	49,9%	52,9%
Fréquence de valeurs >100 et <10 ⁴	0	4,1%	5,1%
Fréquence de valeurs >10 ⁴	0	0,06%	0,08%

De ces résultats, il ressort que la probabilité d'avoir des charges virales > 1 TCID₅₀ dans l'eau de ruissellement (dose minimale infectieuse la plus basse) dépend beaucoup de la prévalence de l'infection dans l'élevage émetteur :

- Si la prévalence est de 10%, la probabilité est quasi nulle
- Si la prévalence est de 20%, cette probabilité est nettement plus élevée. Toutefois, les charges virales restent faibles.
- À 30% de prévalence, la probabilité évolue peu

Pour une dose minimale de 10⁴ TCID₅₀,

- Si la prévalence est de 10%, la probabilité est nulle
- Si la prévalence est de 20%, cette probabilité reste très faible
- A 30% de prévalence, la probabilité évolue peu

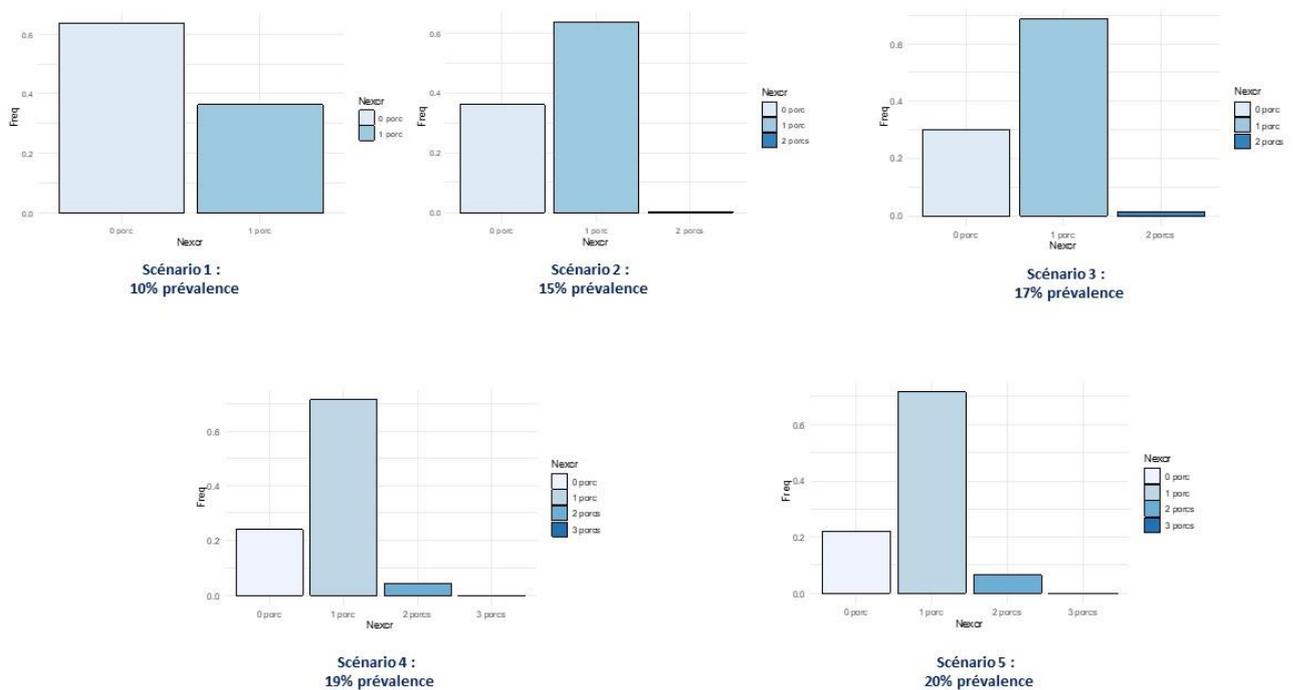
Une rupture est donc mise en évidence dans l'évaluation de cette probabilité lorsque l'on passe de 10% à 20% de prévalence.

Il convient de souligner en premier lieu que le modèle est appliqué à de petites populations de porcs (entre 6 et 35 porcs). 10% de prévalence sur un si faible effectif représente peu de porcs infectés et donc peu de porcs excréteurs, résultant en une probabilité de présence d'une charge virale > 1 TCID₅₀ dans les eaux de ruissellement très faible (beaucoup de simulations aboutissent à un nombre de porcs excréteurs <1). Le fait de passer à 20 % de prévalence augmente le nombre de porcs excréteurs et la probabilité d'une charge virale finale > 1 TCID₅₀ est plus élevée.

Compte tenu de cet effet de rupture, les experts ont ajouté une sortie au modèle pour estimer le nombre de porcs excréteurs en fonction des scénarios de prévalence. Ils ont également exploré l'intervalle 10%-20% de prévalence pour identifier plus précisément le point de rupture.

La figure 4 représente la distribution du nombre de porcs excréteurs pour 5 scénarios de prévalence : 10%, 15%, 17%, 19% et 20% de prévalence. Le tableau 6 représente les statistiques descriptives de la fréquence des charges virales pour les scénarios 15%, 17%, 19% et 20% de prévalence.

Figure 4 : distribution du nombre de porcs excréteurs selon les scénarios de prévalence



L'évolution dans les nuances de bleu des histogrammes est automatique et liée aux nombres différents de catégories en abscisse selon les graphiques.

Tableau 6 : statistiques descriptives de la fréquence des charges virales dans l'eau ruisselée pour les scénarios intermédiaires de prévalence d'infection

	Scénario : 15% prévalence	Scénario : 17% prévalence	Scénario : 19% prévalence	Scénario : 20% prévalence
Fréquence de valeurs > 1	0,002%	0,002%	0,002%	54,1%
Fréquence de valeurs > 1 et <100	0,002%	0,002%	0,002%	49,9%
Fréquence de valeurs >100 et <10 ⁴	0	0	0	4,1%
Fréquence de valeurs >10 ⁴	0	0	0	0,06%

De ces investigations supplémentaires, il ressort que le point de rupture se situe bien à 20% de prévalence dans l'élevage de porcs émetteur. Entre 10% et 20% de prévalence, le nombre de porcs excréteurs augmente progressivement et la probabilité d'atteindre des charges virales > 1TCID₅₀/mL/ha/j devient non nulle à partir de 20% de prévalence.

Enfin, la question de la temporalité de ces événements se pose également : si la probabilité de diffusion du virus de la PPA par les eaux de ruissellement devient non négligeable à partir de 20% de prévalence dans l'élevage, en combien de temps cette prévalence est-elle atteinte ? Ce délai laisse-t-il le temps aux opérations succédant à la mise sous arrêté préfectoral de déclaration d'infection, de se réaliser (si la maladie est détectée avant l'atteinte des 20% de prévalence) ? D'après une étude de modélisation appliquée aux données d'élevages de porcs français, le délai

avant la 1^{ère} détection d'un cas de PPA en élevage de porcs se situe entre 10 et 14 jours (Andraud et al., 2019).

Les experts ont tenté une 1^{ère} approche pour estimer le temps au bout duquel une prévalence intra-élevage de 20% serait atteinte. L'application d'une version déterministe d'un modèle de type SEIR¹⁴ (voir figure 14, annexe 5), paramétré avec les données disponibles de transmission du virus de la PPA entre porcs (Guinat et al, 2016) et en supposant l'absence d'intervention avant l'atteinte de cette prévalence de 20%, aboutit à une durée comprise entre 16 et 24 jours selon que l'on utilise des valeurs de R0 de 4 et 3 respectivement (Guinat et al., 2016). Ces valeurs restent marquées par une incertitude liée notamment à l'approche déterministe utilisée pour estimer ce délai. Compte tenu de la petite taille de la population de porcs considérée et du caractère particulier d'un élevage en plein air, l'approche déterministe a tendance à surestimer le risque. Une approche stochastique (plus longue et non réalisable pour le présent Avis) serait plus appropriée. Il est donc possible que cette durée de 16 à 24 jours soit une sous-estimation du délai réel.

A partir de la zone contaminée, les particules virales peuvent diffuser, *via* les eaux de ruissellement, sur une certaine distance et à une certaine profondeur. Celles-ci peuvent varier en fonction de nombreux paramètres environnementaux : l'intensité de la pluie, de sa durée, le type de sol, son inclinaison, le couvert végétal, la proximité d'un cours d'eau, d'une mare, *etc.* Compte tenu de la variabilité spatio-temporelle de chacun de ces paramètres, et des combinaisons possibles entre eux, une modélisation de la distance et la profondeur sur lesquelles le virus de la PPA pourrait être véhiculé ne peut pas être envisagée car trop dépendante des situations locales très différentes et multiples.

Le Gecu note cependant que :

- une lame de 1 mm d'eau de ruissellement ne parcourt pas plus d'un kilomètre. Sur cette distance, il est fréquent de trouver un cours d'eau, mais le phénomène de dilution sera alors considérable,
- au-delà, le phénomène de dilution sera tel que la probabilité d'avoir une dose infectieuse deviendra quasi-nulle, d'autant que le ruissellement dans un cours d'eau sera très vraisemblable sur cette distance.

¹⁴ SEIR (Susceptible, Exposed, Infected and Recovered) : modèle mathématique compartimental, qui divise la population en classes épidémiologiques telles que les individus susceptibles d'être infectés, ceux qui sont exposés, ceux qui sont infectieux, et ceux qui ont acquis une immunité à la suite de la guérison (ou sont morts).

En conclusion, il ressort de l'approche stochastique pour l'évaluation du risque de diffusion de la PPA à partir d'un élevage de porcs infectés, ayant accès à un parcours extérieur, que :

- la probabilité d'avoir des charges virales $> 1 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}/\text{ha}/\text{j}$ dans l'eau ruisselée dépend de la prévalence de porcs infectés et excréteurs, cette probabilité restant négligeable jusqu'à 20% de prévalence. Au-delà, la probabilité devient beaucoup plus importante d'avoir des charges environnementales $> 1 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}/\text{ha}/\text{j}$ (entre 49 et 53%) ;
- la probabilité d'avoir des charges virales $> 10^4 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}/\text{ha}/\text{j}$ dans l'eau ruisselée dépend de la prévalence de porcs infectés et excréteurs, cette probabilité restant nulle jusqu'à 20% de prévalence. Au-delà de 20% de prévalence, la probabilité devient non nulle mais tout en restant très faible d'avoir des charges environnementales $> 10^4 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}/\text{ha}/\text{j}$ (de l'ordre de 0,08% pour 30% prévalence) ;
- les charges virales restent majoritairement très faibles : fréquence de 4 à 5 % pour les charges supérieures à $10^2 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}/\text{ha}/\text{j}$.

Ainsi, en fonction de la dose minimale infectieuse retenue :

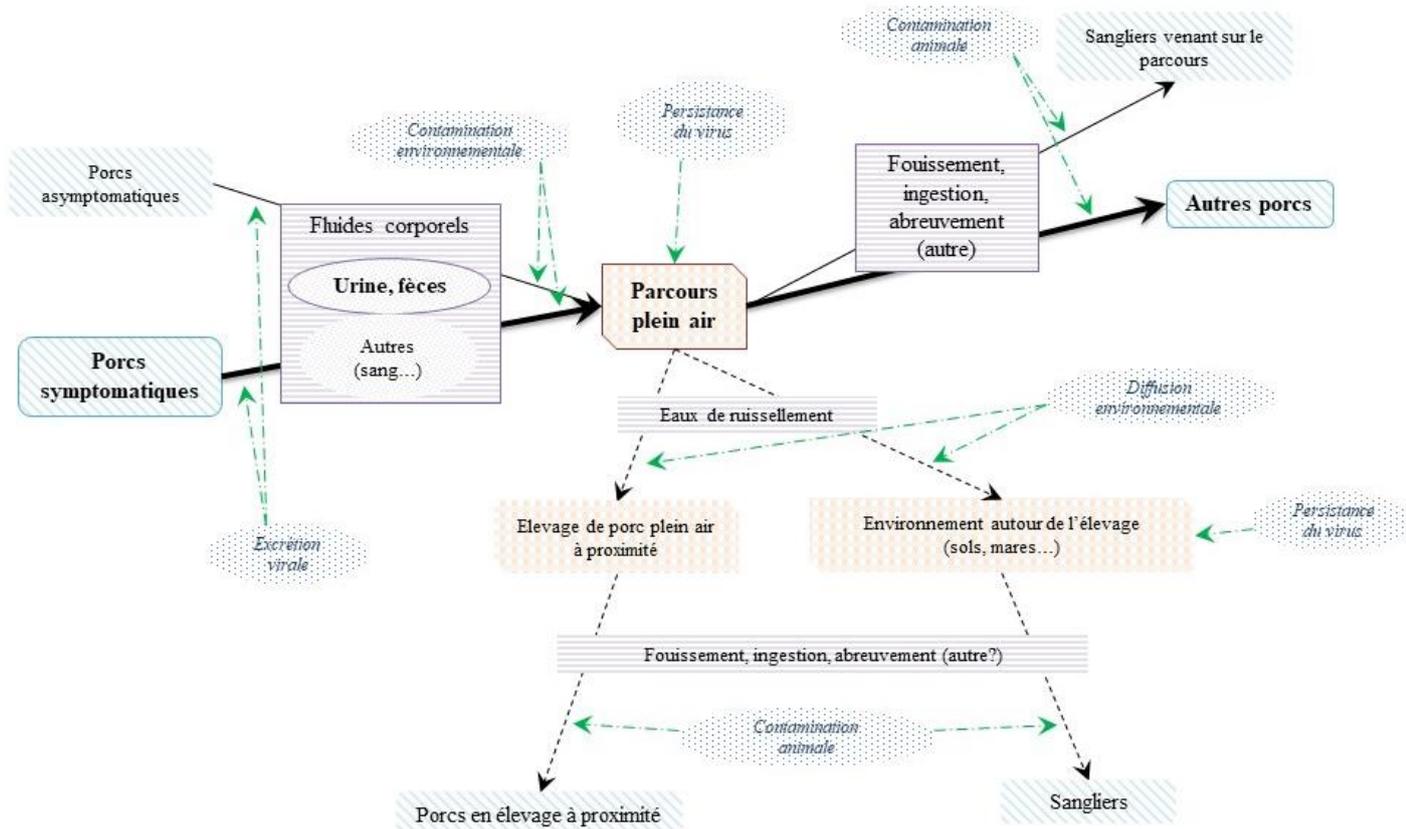
- la probabilité de diffusion du virus PPA *via* les eaux de ruissellement n'est pas négligeable si la prévalence dans l'élevage émetteur atteint 20% et si la dose minimale infectieuse est extrêmement faible ($1 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$) ;
- la probabilité de diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement reste extrêmement faible, y compris au-delà de 20% de prévalence dans l'élevage émetteur, si la dose minimale infectieuse est de l'ordre de 10^2 à $10^4 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$.

Les experts soulignent que l'hypothèse d'une dose minimale infectieuse de l'ordre de $1 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$, obtenue dans l'estimation bayésienne de Niederwerder *et al.* (2019), ne semble pas corroborée par les données épidémiologiques. Toutefois, en l'absence de certitude sur cette dose minimale infectieuse, ils recommandent d'adopter des mesures de surveillance en élevage de porcs permettant de détecter le plus rapidement possible les premiers cas, afin de mettre en œuvre les mesures de police sanitaire au plus vite, avant que le niveau de prévalence de 20% ne soit atteint, ce qui risquerait de conduire, notamment par les eaux de ruissellement, à une diffusion du virus hors de l'élevage.

Si cette surveillance n'était pas suffisante, la probabilité de diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement pourrait augmenter. En cas d'occurrence, cette diffusion hors de l'élevage se produirait sur une courte distance (moins d'un kilomètre). Au-delà, le phénomène de dilution rendrait cette probabilité de diffusion négligeable, sauf dans certains cas particuliers étudiés ci-dessous (*cf.* schémas *infra*).

3.2.1.2.2. Schéma évènementiel (figure 7)

Figure 7. Voies de diffusion du virus de la PPA via l'environnement en élevage de porcs plein air et importances relatives
 L'épaisseur des flèches noires traduit l'importance relative, estimée par le GT, de la voie de diffusion correspondante (de la flèche épaisse à la flèche en pointillé)
 Les flèches en pointillés verts portent sur les modalités de propagation du virus de la PPA (excrétion, contamination, persistance, diffusion)



3.2.1.2.3. Estimation de l'importance relative des scénarios envisagés

Pour évaluer la probabilité de diffusion du virus de la PPA sur les parcours plein air, le Gecu s'est appuyé sur l'analyse suivante :

- ➔ L'excrétion de virus de la PPA dans l'environnement se fait principalement *via* les fèces et les urines de porcs infectés.

Dans le contexte actuel de circulation de souches de virus de la PPA de génotype II hautement virulentes en Europe (à l'exception du cluster observé en Estonie et en Lettonie), la proportion de porcs asymptomatiques, *i.e.* soit en incubation soit guéris, est très faible, du fait de la durée de l'incubation courte (3 - 4 jours) et de la quasi concomitance entre excrétion virale et apparition des signes cliniques, d'une part, et du taux de létalité très élevé de la PPA d'autre part, associé aux souches de virus de la PPA concernées.

A noter que l'excrétion virale peut varier du fait de plusieurs facteurs :

- × son caractère intermittent et intrinsèquement variable d'un animal à l'autre et d'une excrétion à l'autre ;

- × de manière générale, les porcs symptomatiques excrètent autant, voire davantage de virus que les porcs en incubation. Les porcs ayant survécu à la maladie excrètent moins, mais de manière prolongée (cf. § 3.1.3.1). Les porcs présentant des formes hémorragiques, notamment une diarrhée hémorragique, excrètent des quantités très importantes de virus de la PPA. On notera néanmoins que la survenue d'un foyer de PPA en élevage, dans un contexte de forte sensibilisation, amènerait rapidement à la mise en place de mesures de gestion dans l'élevage, réduisant ainsi le nombre de porcs susceptibles de manifester une diarrhée hémorragique et donc une forte excréation. En l'absence de sensibilisation, le retard à la détection du cas index pourrait mener, au contraire, plusieurs animaux à manifester des signes de diarrhée hémorragique (Kipanyula *et al.* 2017).
- × le nombre d'animaux infectés, dépendant lui-même du moment de détection de l'infection dans l'élevage. A ce titre, le Gecu rappelle que la contagion de la PPA n'est initialement pas aussi marquée qu'envisagé au début de l'épizootie en Europe et peut rester cloisonnée quelques temps. Ainsi, le niveau de sensibilisation est majeur pour détecter et agir rapidement. En cas de forte sensibilisation, le nombre d'animaux infectés pourra être limité, mais en l'absence de sensibilisation à cette infection, sa détection en élevage peut être retardée (de l'ordre d'une dizaine de jours à trois semaines, selon le retour d'expérience des pays de l'Est de l'Europe).

Par conséquent, la probabilité d'excrétion, et donc de contamination de l'environnement, est plus élevée avec les porcs symptomatiques qu'avec les porcs asymptomatiques.

- Les sangliers viennent rarement sur les parcours plein air, du fait notamment des clôtures qui doivent être mises en place conformément à la réglementation française, à l'exception de territoire où cette mise en place présente des difficultés particulières, comme mentionné ci-dessus pour la Corse. Ils y viennent attirés principalement par des truies en chaleurs et non par de l'alimentation.

Par conséquent, à partir d'un parcours plein air contaminé, la probabilité qu'un autre porc de l'élevage s'infecte est très supérieure à la probabilité de contamination d'un sanglier.

- Enfin, le rôle du ruissellement dans la diffusion du virus de la PPA à partir d'un élevage de porcs plein air a été évalué *supra*. La probabilité de diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement dépend fortement de la prévalence de l'infection dans l'élevage de porcs émetteur et de la dose minimale infectieuse retenue. Si elle se produisait, elle serait plus vraisemblable sur une courte distance (moins d'un kilomètre), des phénomènes de dilution plus ou moins importants intervenant au-delà de cette distance.

Une forte incertitude demeure sur la connaissance de la dose minimale infectieuse de virus de la PPA en milieu naturel. Selon les valeurs retenues (< 10 à 10⁴ HAD₅₀), la possibilité que les eaux de ruissellement diffusent le virus, à une concentration suffisante, varie très fortement. En tout état de cause, les experts soulignent que, qualitativement, cette probabilité de diffusion *via* l'environnement reste inférieure aux autres modalités analysées *supra*.

3.2.1.2.4. Recommandations

Le Gecu souligne l'importance :

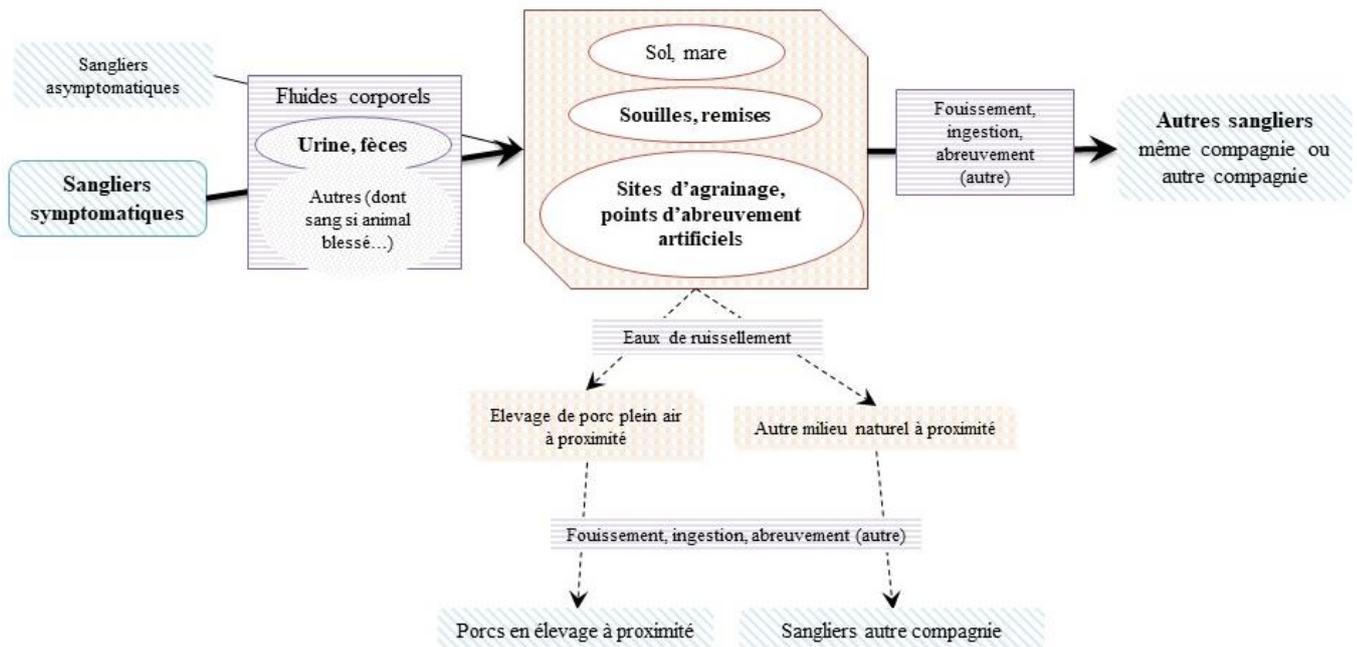
- **d'une sensibilisation des différents acteurs de la filière d'élevage de porcs à la PPA ;**
- **de la détection précoce et de la déclaration rapide de l'infection en élevage**, en lien avec la sensibilisation des acteurs, afin notamment d'empêcher d'atteindre un niveau de prévalence intra-élevage qui augmenterait le risque de diffusion hors de l'élevage par les eaux de ruissellement (20% de prévalence selon le modèle stochastique utilisé dans le présent Avis) ;
- **du respect des mesures de biosécurité en élevage**, en particulier la mise en place de clôtures étanches autour des élevages plein air afin d'éviter les contacts entre porcs et sangliers et l'intrusion de sangliers sur les parcours ;
- **de mécanismes qui favorisent un appui et une indemnisation adaptés et rapides des éleveurs en cas d'infection dans leurs exploitations** (Cassagne 2002, Hallet 2003, Perry et Grace 2009).

3.2.1.3. Sangliers vivants en parcs de chasse ou dans le milieu naturel

3.2.1.3.1. Schéma évènementiel (figure 8)

Figure 8. Voies de diffusion du virus de la PPA *via* l'environnement à partir de sangliers, en parc de chasse ou en milieu naturel et importances relatives

L'épaisseur des flèches noires traduit l'importance relative, estimée par le GT, de la voie de diffusion correspondante (de la flèche épaisse à la flèche en pointillé)



3.2.1.3.2. Estimation de l'importance relative des scénarios envisagés

Pour évaluer la probabilité de diffusion du virus de la PPA, à partir de sangliers vivants, dans les parcs de chasse et le milieu naturel, le Gecu s'est appuyé sur l'analyse suivante :

→ Le porc et le sanglier présentent la même sensibilité vis-à-vis des souches de virus de la PPA circulant actuellement en Europe, les considérations relatives à l'excrétion de virus de la PPA par un porc, mentionnées au § 3.2.1.3, s'appliquent au sanglier.

Par conséquent, la probabilité d'excrétion, et donc de contamination de l'environnement, est plus élevée avec les sangliers symptomatiques qu'avec les sangliers asymptomatiques.

→ Les fluides corporels (sang, urines, fèces, jetage, expectorations, larmes, écoulements vaginaux) peuvent potentiellement être tous virulents, le sang présentant les charges virales les plus élevées. *In natura*, l'excrétion virale par des sangliers *via* le sang peut se produire dans différentes circonstances :

- × en cas de forme clinique hémorragique, en particulier de diarrhée hémorragique ;
- × lors de chasse en battue, la probabilité de blesser des sangliers est plus élevée que lors de chasse à l'affût ou de tirs de nuit. Les saignements qui en résultent vont contaminer l'environnement, notamment les souilles dans lesquelles le sanglier

blessé peut se rouler pour soigner ses plaies. On peut néanmoins supposer qu'un sanglier atteint et malade de PPA aura plus de difficultés à fuir et sera plus (facilement mortellement ?) touché.

Le Gecu estime la deuxième circonstance moins probable que la forme clinique hémorragique. Ces modalités d'excrétion sont toutefois moins fréquentes en pratique que la voie oronasale.

- Les calculs réalisés pour estimer le rôle du ruissellement des eaux dans la diffusion du virus de la PPA ont reposé sur l'hypothèse d'une densité de porcs en élevage plein air comprise entre 6 et 35 animaux par hectare. Même si la densité de sangliers est une donnée extrêmement difficile à estimer, les experts s'accordent à dire qu'hormis certaines situations d'agrégation ponctuelles dans le temps et dans l'espace, cette fourchette de densité n'est pas dépassée pour les sangliers en forêt et se situerait, dans notre pays, dans la moitié basse de cette fourchette. Ainsi, les conclusions du Gecu sur le rôle des eaux de ruissellement dans la diffusion du virus de la PPA dans l'environnement s'appliquent au schéma évènementiel relatif aux sangliers vivants hors zones de gestion particulières (par ex. dans les zones dites « blanches » la densité des sangliers sera plus faible).
- Toutefois, le niveau de contamination environnementale initial peut varier en fonction de la zone concernée. Ainsi, dans des mares et les rivières, un phénomène de dilution important du virus va se produire. A titre d'exemple, en partant du principe qu'une mare fait entre 1 et 100 m³, les TCID₅₀/ml seront diminués d'un facteur 10⁶ à 10⁸. La contamination pourrait être en revanche plus élevée dans les points de rassemblement ou de passages successifs de sangliers :

- × dans les souilles et les remises¹⁵. Dans les souilles, qui peuvent être utilisées successivement par des compagnies différentes, les sangliers fébriles auront tendance à se rouler pour se rafraîchir. Ils peuvent en même temps y uriner, déféquer, et ainsi excréter du virus de la PPA. En outre, la présence d'eau est moins importante dans les souilles que dans les mares, et varie en fonction de la saison/pluviométrie. Les souilles pourraient ainsi constituer des sites où le virus de la PPA est excrété et où le phénomène de dilution virale pourrait être moindre. D'autre part, la survie virale y serait plus importante que dans de l'eau plus claire de rivières ou mares, du fait de la présence importante de matières organiques favorables à la préservation du virus de la PPA.

Les remises sont quant à elles des points de regroupement des sangliers, d'une même compagnie ou de compagnies différentes avec un niveau d'excrétion virale possiblement élevé. Le Gecu note que, dans des périodes critiques, notamment en été, il peut également y avoir agrégation de sangliers dans des zones marécageuses et lacustres.

- × sur les sites d'agraineage et points d'abreuvement artificiel. Les sangliers malades pourraient être davantage attirés par les points d'abreuvement artificiel, du fait de leur état fébrile et de l'anorexie associée. Le niveau d'excrétion virale et la probabilité de contamination de sangliers, d'une même compagnie ou de compagnies différentes, pourront être plus élevés sur ces sites. Les experts soulignent à ce titre que l'agraineage présente un risque sanitaire en période d'épizootie : de nombreuses publications (exemple : Klein *et al.* 2004) mentionnent le risque lié à l'agraineage dans la propagation de maladies infectieuses au sein de populations sauvages. En effet, de tels dispositifs concentrent les animaux en un même lieu. Ils augmentent ainsi les occasions de contact entre groupes d'animaux qui ne se côtoient pas forcément naturellement (compagnies de sangliers). Ceci facilite la propagation d'une infection comme la PPA, qui peut se transmettre par contact direct entre un animal d'une

¹⁵ Remise : site où les sangliers se réfugient la journée pour se reposer. Les souilles ne se situent pas dans les remises.

compagnie infectée et un animal d'une compagnie indemne. Ce type de contamination peut contribuer à la diffusion de proche en proche de la PPA. Le suivi de la peste porcine classique (PPC) dans la population de sangliers du massif forestier de la Petite Pierre (Vosges du Nord) a pu mettre en évidence la diffusion du virus de la PPC de proche en proche, de place d'agraine en place d'agraine, au sein de groupes qui ne se côtoyaient pas par ailleurs (Rossi communication personnelle). Cette diffusion a surtout résulté du fait que les compagnies de sangliers se succédaient sur les mêmes places d'agraine et sur les mêmes points d'eau, ce qui a favorisé la transmission du virus entre compagnies. Le même mode de diffusion est envisageable dans le cas du virus de la PPA.

Le Gecu rappelle néanmoins que la suppression de places d'agraine peut avoir un effet délétère car elle peut inciter les sangliers à aller se nourrir sur d'autres places, en l'absence de ressources alimentaires immédiatement disponibles. Toutefois, dans un tel cas, ils auront plutôt tendance à rechercher leur alimentation sur les points d'agraine qu'ils connaissent (sur des distances d'un à 2 km quand les domaines vitaux sont stables). De ce fait, il conviendrait *a minima* d'interdire l'agraine sur des surfaces suffisantes (comme cela est pratiqué dans des zones infectées de tuberculose) pour que, dans de telles situations, les sangliers puissent difficilement en rechercher d'autres et diffuser ainsi la maladie de proche en proche.

La probabilité d'excrétion de virus de la PPA dans l'environnement peut donc être plus élevée dans ces différents sites. Elle dépendra principalement du nombre de sangliers malades et des densités de population de sangliers sur ces sites.

Une forte incertitude demeure sur la connaissance de la dose minimale infectieuse de virus de la PPA en milieu naturel. Selon les valeurs retenues (10^4 HAD₅₀ et < 10 HAD₅₀), la possibilité que les eaux de ruissellement diffusent le virus, à une concentration suffisante, varie très fortement. En tout état de cause, les experts soulignent que, qualitativement, cette probabilité de diffusion *via* l'environnement reste inférieure aux autres modalités analysées supra (*i.e.* fuissement, ingestion, abreuvement).

3.2.1.3.3. Recommandations

Pour réduire la probabilité de diffusion et de transmission du virus de la PPA dans les parcs de chasse, le GECU souligne l'importance de :

- **contrôler les densités de population de sanglier ;**
- **ne pas favoriser les concentrations anthropiques de sangliers *via* les sites d'agraine et points d'abreuvement artificiel ;**
- **éviter la chasse en battue en zone infectée et, lors de chasse, rechercher les sangliers blessés par balle et éliminer proprement tous les cadavres au fur et à mesure de leur collecte.**

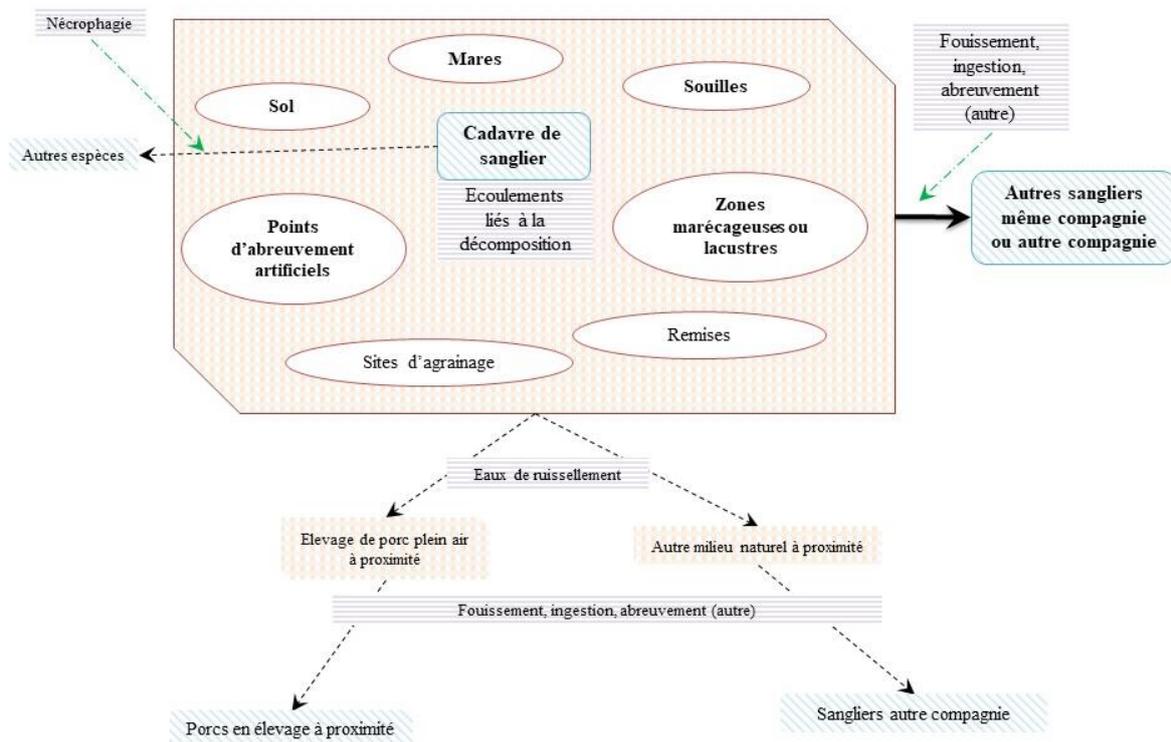
3.2.1.4. Sangliers morts en parcs de chasse ou dans le milieu naturel

3.2.1.4.1. Schéma évènementiel (figure 9)

Figure 9. Voies de diffusion du virus de la PPA *via* l'environnement à partir de cadavres de sangliers en parc de chasse ou en milieu naturel et importances relatives

L'épaisseur des flèches noires traduit l'importance relative, estimée par le GT, de la voie de diffusion correspondante (de la flèche épaisse à la flèche en pointillé).

Les flèches en pointillés verts portent sur les modalités de propagation du virus de la PPA (excrétion, contamination, persistance, diffusion).



3.2.1.4.2. Estimation de l'importance relative des scénarios envisagés

Pour évaluer la probabilité de diffusion du virus de la PPA, à partir de sangliers morts, dans les parcs de chasse et le milieu naturel, le Gecu s'est appuyé sur l'analyse suivante :

- Un cadavre de sanglier mort de PPA constitue une source de contamination et conduit à une excrétion virale *via* les écoulements de liquides de décomposition, sa persistance dans l'environnement pouvant être plus ou moins prolongée en l'absence d'intervention humaine, en fonction notamment des paramètres physiques et de la présence de charognards. Ainsi, dans une étude portant sur le suivi de 32 cadavres de sangliers d'âge différents, éviscérés ou non), la décomposition jusqu'au stade de squelette a duré de quatre jours à trois mois en fonction de la température et de la taille de la carcasse (Probst *et al.* 2017).

Les experts notent que l'inaccessibilité des cadavres à une éventuelle prise en charge par l'Homme, dans le cadre de mesures de lutte contre la PPA, constitue un facteur de persistance du virus dans l'environnement. C'est le cas par exemple d'une zone marécageuse ou lacustre, que peut rechercher un sanglier malade en hyperthermie, et dans laquelle le risque de non détection de cadavre est plus élevé. C'est le cas également

de zones forestières très fermées, particulièrement broussailleuses, où les cadavres échappent à la vigilance des ratisseurs.

Le Gecu souligne le manque de données aujourd'hui disponibles sur la contamination environnementale par le virus de la PPA à partir des cadavres de sangliers.

- En fonction de l'endroit où se trouve le cadavre, la contamination de sangliers pourrait avoir lieu par fouissement à proximité immédiate du cadavre¹⁶, du fait des écoulements de liquides de décomposition ou par ingestion d'eau contaminée si un sanglier meurt dans une petite mare. A partir d'un cadavre et des liquides de décomposition, la diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement est envisageable. Cependant, compte tenu du manque de connaissances sur la charge virale d'un cadavre, la vitesse de décomposition et les quantités de liquide de décomposition produites, et compte tenu de la variabilité de ces paramètres en fonction de l'environnement (température, humidité, faune détritiver, endroit où se situe le cadavre...), un calcul sur la diffusion du virus de la PPA *via* les eaux de ruissellement n'a pas pu être spécifiquement réalisé dans le cas des cadavres de sangliers.

Par rapport au modèle élevage de porcs en plein air, la densité de cadavres à l'hectare sera très probablement moindre (hormis possiblement dans les parcs de chasse), toutefois la charge virale émise par un cadavre pourrait être très supérieure à celle mesurée dans les urines et fèces de porcs vivants. Il n'est donc pas possible d'extrapoler les conclusions pour les porcs vivants aux cadavres. Toutefois, les experts estiment que la contamination éventuelle de sangliers ou de porcs plein air à partir de ces eaux de ruissellement serait moins importante, du fait de la dilution du virus de la PPA, que ne le serait la contamination de sangliers par fouissement, ingestion, abreuvement à proximité du cadavre (*cf.* figure 9). Néanmoins, l'incertitude sur la dose minimale infectieuse plaide, là aussi, en faveur du retrait rapide du cadavre.

- La diffusion dans l'environnement pourrait également résulter de la nécrophagie par d'autres espèces sauvages (carnivores nécrophages et, plus *in situ*, par la faune détritiver locale). Néanmoins, les données actuellement disponibles (*cf.* § 3.1.3.2) tendent à montrer qu'elle ne joue pas un rôle déterminant dans la transmission du virus en milieu naturel.

La persistance d'un cadavre de sanglier et les écoulements qui y sont associés constituent ainsi les principaux facteurs d'excrétion, de persistance du virus de la PPA dans les parcs de chasse et le milieu naturel.

3.2.1.4.3. **Recommandations**

En cas d'émergence de PPA, le Gecu souligne toute l'importance :

- **d'une recherche active des cadavres de sangliers et de leur retrait rapide** en respectant les mesures visant à éviter la propagation de l'infection lors de leur manipulation
- **d'un assainissement de l'environnement immédiat des cadavres** après leur retrait afin de réduire le risque de persistance du virus localement.

Des modalités pratiques du retrait des cadavres et l'assainissement de l'environnement des cadavres sont décrites dans livre de référence intitulé « GF-TADs Handbook on ASF in wild boar and biosecurity » (Guberti *et al.* 2018).

¹⁶ Pour mémoire, la nécrophagie constitue une modalité particulière de contact direct. Le contact direct n'est pas évalué dans la présente saisine

3.2.1.5. Est-ce que l'effet des UV pourrait permettre de réduire ce risque?

Dans l'avis 2018-SA-0237, il est indiqué qu'aucune étude ne cible la décontamination de différentes matrices par une irradiation aux ultraviolets (UV). La plus grande persistance du virus à l'obscurité peut suggérer une sensibilité aux UV, cette efficacité reste néanmoins à confirmer en conditions naturelles (cf. § 3.1.4 et Anses 2019), la présence plus ou moins importante de matière organique dans l'eau pouvant influencer sur l'effet des UV sur les virus (Dayaram et al, 2017).

3.2.2. Devenir des eaux de nettoyage d'un abattoir infecté.

La saisine indique qu'« en cas de détection en abattoir, en porcherie ou au sein du hall d'abattage, les eaux servant au nettoyage de ces installations sont très souvent canalisées vers un même exutoire par exemple avant d'intégrer les stations d'épuration dédiées à l'abattoir ou intégrées à une STEP collective. En abattoir, ces eaux sont dégrillées afin de limiter la taille des particules qu'elles véhiculent à 6 mm. »

3.2.2.1. Peut-on évaluer la persistance du virus dans un milieu liquide contenant peu de matière organique ? Le rapport de la saisine N°2018-SA-0237 fait état d'une persistance de 50 jours en été et 176 jours en hiver mais après contamination expérimentale d'une eau douce à 1/1000 et dans un contenant fermé enfoui dans le sol.

Outre la persistance de 50 jours évoquée dans la saisine, l'avis 2018-SA-0237 (Anses 2019) mentionne une autre étude, dans laquelle « de l'eau contaminée avec un titre viral de $10^{5.5}$ HAU₅₀/cm³ s'est révélée positive en PCR temps réel après 60 jours de stockage entre 22 et 25°C, mais aucune particule infectieuse n'a pu être isolée en culture cellulaire (Sindryakova et al. 2016). »

Les experts rappellent que seules ces deux études sont ressorties de la recherche bibliographique approfondie réalisée dans le cadre de cette saisine, ce qui a conduit à conclure que « les informations quant à la survie du virus dans l'eau sont très limitées et difficiles à interpréter. »

3.2.2.2. Un traitement à la chaux qui n'agirait que par action du pH>12 peut-il être jugé suffisant pour réduire ce risque ?

Un traitement à la chaux peut être réalisé en utilisant soit de la chaux vive ou « burnt lime » (oxyde de calcium), soit de la chaux éteinte ou chaux hydratée (hydroxyde de calcium). Leurs modes d'action ont été décrits dans l'avis Anses 2016-SA-0196 relatif à la désinfection des parcours plein air des élevages de volailles (Anses, 2016b) :

« L'hydroxyde de calcium et l'oxyde de calcium agissent en augmentant l'alcalinité du milieu traité avec la possibilité d'atteindre un niveau de pH supérieur à 12. L'augmentation des ions OH⁻ entraîne une dénaturation des structures protéiques des micro-organismes comme les capsides. Concernant la chaux vive (oxyde de calcium), deux autres effets contribuent à l'efficacité de la substance :

- Une augmentation de la température : la chaux vive réagit avec l'eau pour former de l'hydroxyde de calcium (chaux éteinte) lors d'une réaction exothermique. On retrouve des températures de l'ordre de 45-100 C° pendant un temps court, au moment de l'application de la chaux vive. Ainsi, la charge virale peut être réduite durant l'exposition aux températures les plus élevées, l'augmentation de la température ayant alors un effet qui renforce la dénaturation des protéines, dans un environnement alcalin.
- Une diminution de la disponibilité en eau dans le milieu où la substance est appliquée. En effet, lorsque la chaux vive est ajoutée à de la matière organique humide, une partie de l'eau est utilisée dans la réaction pour former de l'hydroxyde de calcium et une autre partie s'évapore du fait de l'augmentation de la température. Cette propriété serait sans effet dans le cadre d'un procédé de désinfection de l'eau.

L'efficacité de la chaux vive associe donc un effet lié au pH seul et un effet combinant le pH et l'augmentation de la température. Cet effet combiné pH/température est particulièrement important pour l'élimination des micro-organismes qui ne seraient pas sensibles au seul pH. »

Comme indiqué dans l'avis 2018-SA-0237 (Anses, 2019), compte tenu des données disponibles actuellement, l'inactivation du virus par pH basique ne paraît pas être 100% efficace (cf. § 3.1.4).

L'action conjointe du couple pH/température pendant une durée *ad hoc* constitue un élément essentiel de l'efficacité d'un traitement sur le virus de la PPA.

Les experts soulignent que des essais, conduits par les producteurs de chaux, sont en cours pour tester l'efficacité de la chaux (vive et hydratée) sur le virus ECBO (norme NF EN 14675), dont les résultats ne sont pas disponibles à la date de validation du présent avis. Ces résultats pourraient conduire à reconsidérer l'intérêt de la chaux.

Dans l'hypothèse où la chaux vive s'avèrerait efficace selon la norme NF EN 14675, son usage pourrait être envisageable en abattoir pour le traitement d'eaux de nettoyage en bac collecteur. Son utilisation en pratique pourrait néanmoins dépendre du type d'installations de récupération de ces eaux dans les abattoirs.

3.2.3. Entreposage de fumier mélangé avec de la chaux à l'extérieur suite à la décontamination d'un bâtiment

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales et/ou s'infiltrer dans le sol ?

Après quelle durée de stockage une application dans les sols d'un tel lisier chaulé serait envisageable ?

Concernant la première question sur la diffusion du virus de la PPA à partir du fumier entreposé à l'extérieur, le virus pourrait effectivement être véhiculé par les eaux pluviales et/ou s'infiltrer dans le sol. Cette diffusion peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que la charge virale du fumier, le type de sol sur lequel il est entreposé (nature du sol, inclinaison...), des précipitations (fréquence, intensité, durée...), du niveau d'étanchéité du bâchage s'il est réalisé.

En termes de mesures de gestion, l'OIE (2017) recommande, pour inactiver le virus de la PPA dans le lisier et le fumier de porc, d'utiliser un traitement par la chaleur humide soit à une température d'au moins 55°C pendant une durée minimale d'une heure, soit à une température d'au moins 70°C pendant une durée minimale de 30 minutes.

En Belgique, le traitement des fumiers et lisiers en cas d'apparition de la PPA est prévu réglementairement. L'Annexe 1 point 3 de l'Arrêté Royal du 19/03/2004 relatif à la lutte contre la peste porcine africaine prévoit :

« 3. Désinfection de la litière, du fumier et du lisier contaminé :

- a) *le fumier et la litière usagée sont empilés pour chauffer, aspergés de désinfectant et reposent pendant 42 jours au moins ou sont détruits en étant incinérés ou enfouis ;*
- b) *le lisier est entreposé pendant 60 jours au moins à partir de la dernière adjonction de matériel infecté, à moins que l'Agence n'autorise une période de stockage réduite pour le lisier ayant été effectivement traité conformément aux instructions données par le vétérinaire officiel afin de garantir la destruction du virus. »*

Par ailleurs, l'avis du Comité scientifique de l'AFSCA 06/2019¹⁷ qui traite des sous-produits animaux complète la réglementation, et recommande de :

- *« Prévenir tout contact avec des sangliers ou des vecteurs mécaniques durant le stockage de lisiers contaminés ;*
- *Prévenir tout ruissellement de liquides contaminés à partir du lieu de stockage de lisiers ;*
- *Privilégier le stockage des lisiers contaminés en dispositif de stockage hermétiquement clos ;*
- *Proscrire l'épandage direct de lisiers contaminés. Dans la situation épidémiologique actuelle belge, le Comité scientifique ne recommande pas la valorisation de lisiers contaminés par la PPA. Ces derniers devraient être systématiquement traités chimiquement et/ou thermiquement (y compris l'incinération). »*

Le Gecu relève plusieurs difficultés quant à la réalisation pratique de ces mesures, notamment :

- l'homogénéité d'un traitement thermique, condition nécessaire pour leur efficacité ;
- la prévention de l'accès du fumier à des sangliers et surtout à des vecteurs mécaniques de petite taille pendant un temps de stockage prolongé ;
- le caractère réellement hermétique du stockage pour notamment empêcher le ruissellement.

En l'absence de garantie du respect de ces conditions, une persistance du virus de la PPA est possible, avec diffusion lors de l'épandage. Le Gecu recommande donc d'avoir recours à l'incinération du fumier en cas de foyer de PPA en élevage.

¹⁷ Avis 06-2019 du SciCom (Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA) approuvé le 22 mars 2019, relatif à la gestion des sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine en cas de foyer de tuberculose, de brucellose, de botulisme et de peste porcine africaine

3.3. Evaluation du risque de contamination des animaux par le virus de la PPA à partir des aliments pour animaux *via* l'utilisation de produits sanguins

3.3.1. Règlementation relative à la transformation du sang de porc destiné à l'alimentation animale

Le règlement (CE) n°142/2011¹⁸ encadre la façon dont doivent être fabriqués les produits sanguins.

- Selon ce Règlement, les produits sanguins dans l'Union Européenne (Annexe X, chapitre II, section 2 du Règlement) doivent provenir de sang visé à l'article 10, point a) et point b) i), du règlement (CE) n°1069/2009, c'est-à-dire destiné à la consommation humaine (point a) ou issu d'animaux mis à mort en abattoir, après avoir subi une inspection ante-mortem favorable et pouvant avoir fait l'objet d'une saisie partielle mais pas totale (point b.i).
- Ce sang doit avoir subi une transformation, en ayant été soumis (comme d'autres sous-produits animaux) :
 - à l'une des méthodes de transformation 1 à 5 ou à la méthode de transformation 7 décrites à l'annexe 4, chapitre III du Règlement (*cf.* annexe 7 du présent rapport)
 - ou
 - à une « autre méthode » garantissant la conformité du produit sanguin avec les normes microbiologiques applicables aux produits dérivés, concernant deux indicateurs : *Salmonella* et entérobactéries.

Concernant les méthodes de transformation préétablies, les méthodes 1 à 5 précisent les paramètres technologiques mis en œuvre dans les traitements.

Mais il n'en est pas de même pour la méthode 7 (Tableau 5), qui regroupe différents traitements pouvant être validés par l'autorité compétente, dès lors que l'exploitant a démontré que les conditions suivantes étaient remplies :

- détermination des dangers pertinents dans les matières premières, eu égard à l'origine des matières, et des risques potentiels, eu égard au statut zoosanitaire de l'État membre ou de la région ou zone où la méthode doit être appliquée ;
- capacité de la méthode de transformation à limiter ces dangers à un niveau qui ne présente aucun risque important pour la santé publique et animale ;
- une obligation de résultat est respectée concernant trois indicateurs microbiologiques : *Salmonella*, entérobactéries et *Clostridium perfringens*.

Concernant une « autre méthode », il faut noter que les normes microbiologiques applicables sont moins exigeantes que pour la méthode 7, puisqu'elles ne concernent que *Salmonella* et entérobactéries, sans objectif sur *Clostridium perfringens*.

- Selon ce même Règlement, les produits sanguins importés de pays tiers (Annexe XIV, chapitre I, section 5 du Règlement) qui sont dérivés d'animaux de l'espèce porcine et destinés à l'alimentation de ces derniers doivent être :
 - soumis à un traitement thermique à une température à cœur d'au moins 80 °C, le sang et le plasma sanguin séchés ne présentant pas plus de 8 % d'humidité avec une activité de l'eau (Aw) inférieure à 0,60 ;
 - entreposés dans un endroit sec à température ambiante pendant au moins six semaines.

¹⁸Règlement (UE) n°142/2011 de la Commission du 25 février 2011 portant application du règlement (CE) n° 1069/2009 du Parlement européen et du Conseil établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et portant application de la directive 97/78/CE du Conseil en ce qui concerne certains échantillons et articles exemptés des contrôles vétérinaires effectués aux frontières en vertu de cette directive.

La réglementation est donc différente pour les produits sanguins internes à l'Union Européenne et les produits sanguins importés.

Questionnée sur cette différence, la DGAL a rappelé qu'au sein de l'Union européenne, le sang de tout animal atteint de maladie transmissible ou suspect de l'être ne peut être destiné à l'alimentation animale. Le sang est alors déclassé de la catégorie C3 (utilisation possible en alimentation animale) à la catégorie C2 (pas d'utilisation possible en alimentation animale), ces catégories étant définies dans le Règlement relatif aux sous-produits animaux (1069/2009). L'Union européenne peut mieux connaître, *via* les déclarations obligatoires des Etats Membres, l'origine des animaux abattus au sein de l'Europe, que celle des animaux abattus dans les pays tiers. Cela a conduit le législateur européen à adopter une réglementation différente pour le traitement des produits sanguins importés que pour les produits européens.

Il faut toutefois noter qu'en Europe, des animaux en incubation d'une maladie transmissible, comme la PPA, sont susceptibles d'être abattus avant la déclaration des symptômes et avant toute suspicion. Le sang de ces animaux pourrait contenir l'agent pathogène, fût-il en faible quantité.

Les paramètres de transformation préconisés dans les méthodes décrites dans le Règlement 142/2011 ont été extraits de l'annexe 7 du présent document (*cf.* tableau 7).

Tableau 7 : Paramètres de transformation préconisés dans les méthodes du Règlement 142/2011

Méthodes de transformation	Paramètres préconisés (température atteinte à cœur)			
Méthode 1	133°C, > 20mn, 3 bars			
Méthode 2	100°C, > 125mn	110°C, > 120mn	120°C, 50 mn	
Méthode 3	100°C, 95mn	110°C, > 55mn	120°C, > 13mn	
Méthode 4	Ajout de graisses puis traitement thermique (ci-dessous)			
	100°C, > 16mn	110°C, > 13mn	120°C, > 8mn	130°C, > 3mn
Méthode 5	Cuisson jusqu'à coagulation puis pression pour extraction eau et graisses / protéines			
	80°C, > 120mn		100°C, > 60mn	
Méthode 7	Obligations de résultats sur <i>Salmonella</i> , entérobactéries et <i>Clostridium perfringens</i>			
Autre méthode	Obligations de résultats sur <i>Salmonella</i> et entérobactéries			

3.3.2. Echanges intra-communautaires et importations de sang et de produits sanguins

Au niveau de l'Europe, tous les sous-produits animaux catégorisés C3 sont éligibles aux échanges intra-communautaires, tant que ces échanges ne sont pas interdits pour cause de maladie dans un état membre. Ces échanges intra-communautaires incluent également la Suisse et la Norvège.

En revanche, le sang non transformé, destiné à l'alimentation animale, ne peut faire l'objet d'importations en provenance de pays tiers. Une transformation préalable est obligatoire selon les conditions indiquées *supra*. Si un pays a déclaré une maladie listée par l'OIE, l'autorisation d'exportation des produits de l'espèce concernée est alors suspendue.

3.3.3. Etat des lieux des méthodes de transformation appliquées sur le terrain

Les produits sanguins transformés en France, ou plus généralement en Europe par les opérateurs auditionnés, et mis sur le marché en France, sont soumis aux traitements décrits dans le tableau 8 (selon une « méthode 7 » de transformation validée conformément au règlement 142/2011, *cf.* tableau 7) :

Tableau 8 : méthodes de transformation appliquées en Europe par les opérateurs auditionnés

	Plasma	Hémoglobine
Température	200°C à l'entrée de la tour de séchage 82°C à la sortie de la tour de séchage	200°C à l'entrée de la tour de séchage 85°C à la sortie de la tour de séchage
Durée	20 à 30 secondes	1 minute
Pression (atomisation avant l'entrée en tour de séchage)	175 bars	300 bars
Stockage	2 semaines à 20°C	2 semaines à 20°C

Le pH du sang avant transformation se situe entre 6,5 et 7. Le pH du plasma est à 8,5-9, suite à un ajout soude pour des raisons technologiques.

Le stockage de 2 semaines à 20°C est une disposition non obligatoire en Europe, adoptée par les opérateurs. Ce délai est de nature à limiter l'éventuel rappel de lots mis sur le marché si la mise en évidence d'un événement sanitaire survenait, imposant le déclassement des produits sanguins en C2 (non destinés à l'alimentation animale).

Des contrôles vis-à-vis du virus de la PPA sont réalisés par certains opérateurs :

- Recherche à l'aide d'un kit PCR par un laboratoire non agréé par le ministère de l'agriculture pour le diagnostic de la PPA¹⁹: A ce jour, les opérateurs disposent de 10 analyses négatives à raison d'une analyse sur un échantillon moyen par lot de 10 tonnes de plasma.
- Etude expérimentale réalisée en Espagne (résumé de congrès de Blazquez *et al.* 2018²⁰, cf. annexe 8) : un plasma inoculé avec du virus de la PPA ($10^{5.77}$ TCID₅₀/mL de plasma) a été transformé conformément à la méthode indiquée dans le tableau 6. Le titrage du plasma après traitement a permis de conclure à une réduction de 4 log₁₀ par la méthode de transformation. Les auteurs notent « *qu'une réduction de 3 à 4 log₁₀ d'un agent pathogène confère, selon l'OMS (2004), une réduction satisfaisante du risque de transmission en alimentation humaine ou animale* ».

Cette référence à l'OMS (2014) renvoie aux lignes directrices de l'organisation relatives aux méthodes de transformation pour la préparation de plasma humain, à partir des dons de sang. Ces lignes directrices considèrent en effet qu'une méthode de transformation permettant d'inactiver ou d'éliminer des quantités substantielles de virus de l'ordre de 4 log₁₀ ou plus, peut être considérée comme efficace. Cependant, les auteurs de ces lignes directrices rappellent et soulignent en préambule que ces recommandations ne peuvent pas être dissociées des autres mesures de prévention à appliquer dans la préparation de ces produits sanguins. En effet, une triade de mesures est à appliquer, à savoir la sélection de l'origine des donneurs + le contrôle des dons et des pools de dons + la méthode de transformation. Aucune des trois n'apporte à elle seule une sécurité suffisante. L'application de cette triade de mesures doit permettre que les lots de sang à transformer ne contiennent qu'une quantité faible de virus.

Ainsi, les experts notent que, dans le cas du virus de la PPA dans le sang de porc, si la charge virale est importante au départ, une diminution de 3 à 4 log₁₀ ne suffira pas à réduire suffisamment le risque de transmission en alimentation animale, la dose résiduelle pouvant alors rester supérieure à la dose minimale infectieuse. Cette expérimentation conduit donc à conclure que cet abaissement de la charge virale peut être considéré suffisant si la contamination du lot de sang n'est pas trop élevée (*a priori* non compatible avec du sang provenant majoritairement de porcs infectés, par exemple).

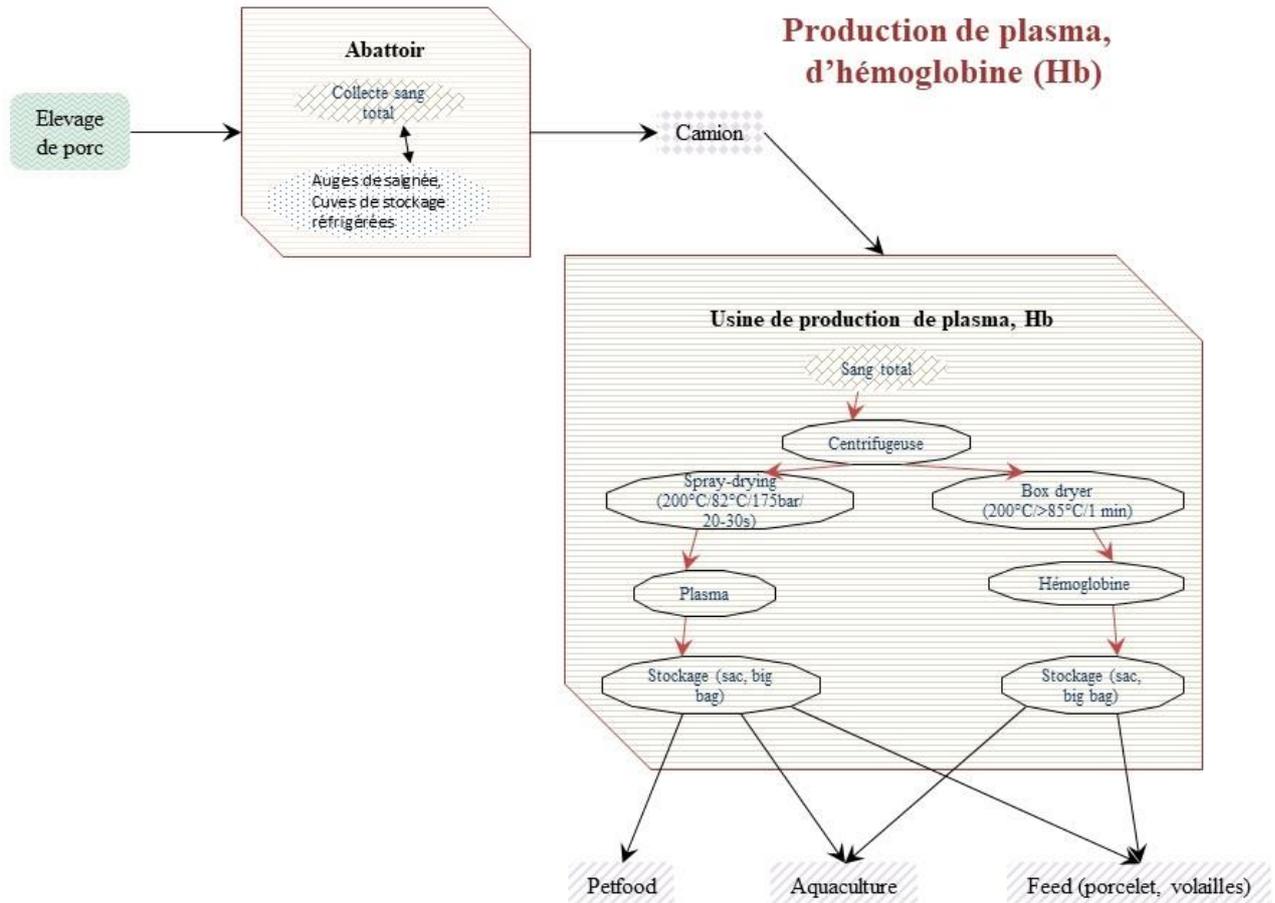
¹⁹ Deux laboratoires sont aujourd'hui agréés pour le dépistage virologique de la PPA : LDA72 (Sarthe) et LDA67 (Bas-Rhin)

²⁰<https://www.eapa.biz/sites/eapa/files/inline-files/Effect%20on%20Spray%20on%20ASFV-Abstract%20for%20Leman%20China%20Conference-Final-2.pdf>

3.3.4. Schéma évènementiel

Afin d'apporter des éléments de réponse à la question de la saisine sur le risque lié au plasma de porc en alimentation animale, le Gecu a élaboré, sur la base des auditions de producteurs de produits sanguins, le schéma évènementiel de cette production à partir de sang de porc, présenté ci-dessous (figure 10).

Figure 10 : Schéma évènementiel de la production de plasma et d'hémoglobine à partir de sang de porc



3.3.5. Evaluation de risque

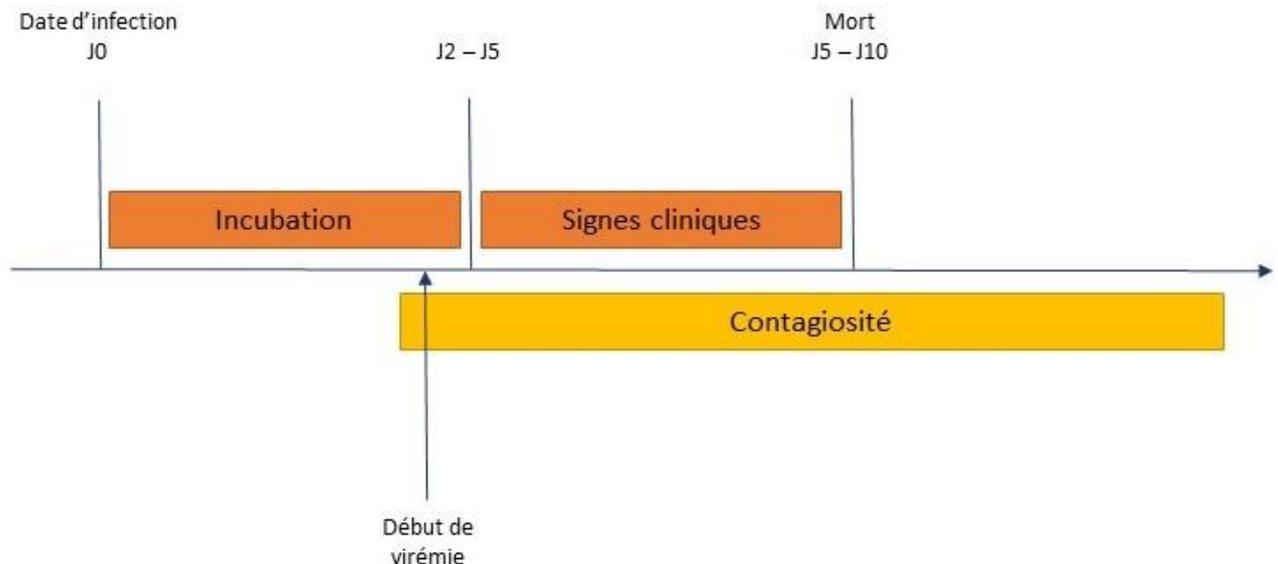
- **Probabilité qu'un porc asymptomatique entre dans un abattoir**

Considérant que les porcs malades ou suspects de l'être sont écartés de toute consommation, seule l'entrée en abattoir d'un porc infecté asymptomatique est à prendre en considération dans cette évaluation de risque. Cette probabilité est le croisement de :

- ✓ la probabilité que l'élevage soit infecté, ce qui dépend du pays d'origine, et des mesures mises en place. Si cette probabilité est nulle à quasi-nulle dans un pays indemne (en fonction de son niveau de surveillance), elle peut être plus élevée dans un pays atteint partiellement par la PPA et encore davantage dans un pays où circulerait des souches atténuées du virus de la PPA. Il est par exemple possible pour des fabricants de plasma et d'hémoglobine, de collecter du sang de porc en provenance de zones non contaminées de pays infectés de PPA comme la Pologne ;

- ✓ la probabilité qu'un porc provenant d'un élevage infecté soit asymptomatique et virémique. Cette probabilité dépend :
 - de la durée de cette phase asymptomatique avec présence du virus dans le sang, dans la cinétique de l'infection par le virus actuel de la PPA. Celle-ci est très courte (quelques heures à 2 jours) comme l'indique la figure 11 ci-dessous.

Figure 11 : Evolution théorique de la PPA chez le porc



- du nombre d'animaux susceptibles d'être dans cette phase asymptomatique dans un élevage infecté. Celui-ci peut être faible, à condition que les acteurs de la filière porcine soient fortement sensibilisés et que la surveillance soit adéquate (Guinat *et al.* 2016). En effet, si la détection de l'infection en élevage est rapide, il est probable que peu d'animaux aient eu le temps d'être contaminés. En dehors de cette situation favorable, la détection de l'infection serait plus longue. Il convient de souligner que les premiers signes cliniques sont très frustes et que la mortalité est souvent le 1^{er} signe d'alerte, malgré son caractère peu spécifique. Ainsi, le délai entre introduction et détection de la maladie pourrait atteindre une dizaine de jours, voire le double en l'absence de sensibilisation.

On peut noter que, dans les pays européens où des foyers de PPA ont été détectés dans le cadre d'une surveillance active, la prévalence d'infection symptomatique au moment de la détection était inférieure à 1%. En Roumanie, dans les exploitations dites de basses-cours détenant au maximum une dizaine d'animaux, presque tous les porcs étaient malades. En général, dans les élevages de basses-cours, la prévalence est de l'ordre de 70%. Les experts estiment que la prévalence dans les élevages de porcs plein air est intermédiaire, variant entre ces deux valeurs.

Compte tenu de l'ensemble de ces éléments, le Gecu considère très faible la probabilité qu'un porc asymptomatique entre dans un abattoir dans le contexte actuel de sensibilisation en France à la PPA. Les experts notent que cette probabilité pourrait être diminuée par un dépistage de l'infection en élevage, mesure qui pourrait être considérée en fonction de l'évolution de la situation de la PPA en Europe. En situation épidémiologique évolutive, les pays de l'Est ont mis en place une surveillance active dans les zones à risque en réalisant des analyses systématiques sur les mortalités survenant dans les élevages se trouvant dans ces zones à risque avec une fréquence hebdomadaire. En Belgique, tout cas de mortalité anormale ou manifestations pathologiques motivant la mise en place d'un traitement par un vétérinaire doit faire au préalable l'objet d'analyses pour recherche de la PPA avant que le traitement ne soit mis en place.

- **Probabilité de contamination du sang collecté en abattoir**

Comme indiqué au point 3.3.1, des animaux en incubation d'une maladie transmissible comme la PPA, sont susceptibles d'être abattus avant la déclaration des symptômes et avant toute suspicion.

- Outre la contamination des locaux par l'animal vivant, le sang du ou des porc(s) infecté(s) asymptomatique(s) et virémique(s) pourra contaminer le matériel (dispositif de récupération du sang, cuves de stockage réfrigérées) et la chaîne d'abattage. Pour rappel, le sang constitue le fluide corporel le plus virulent, avec des charges pouvant aller jusqu'à plus de 10^8 HAD₅₀/mL. Le Gecu précise que les questions relatives au risque lié à l'abattage de porcs infectés par la PPA en abattoir, ont été traitées dans la saisine 2018-SA-0251.
- Concernant la contamination du sang collecté dans cet abattoir, le sang du ou des porc(s) asymptomatique(s) et virémique(s) se trouvera dilué avec celui d'autres porcs dans les cuves de stockage. Selon les éléments recueillis lors des auditions, le volume d'une cuve de collecte de sang est compris entre 1 600 L et 15 000 L, le nombre de cuves par abattoir variant entre une à quatre cuves. Selon le Gecu, en se basant sur un volume sanguin d'environ 7,5 L pour un porc charcutier, ce volume de cuve correspond au sang récupéré sur 215 à 2 000 porcs. Le niveau de dilution de la charge virale va varier en fonction du nombre de porcs infectés, de la charge virale dans le sang des animaux infectés asymptomatiques et du volume de la cuve.

Dans le cas d'une charge virale sanguine de 10^5 HAD₅₀/mL²¹, dans le sang d'un seul porc asymptomatique virémique, la charge virale totale amenée par les 7,5 L de ce porc abattu serait de $7,5 \times 10^8$ HAD₅₀. La dilution dans une cuve de 15 000 L aboutirait à une charge virale de 50 HAD₅₀/mL, et d'environ 50×10^1 HAD₅₀/mL dans une cuve de 1600 L. Ces charges virales sont proches de la dose minimale infectieuse. Elles peuvent la dépasser, selon la valeur retenue parmi les différentes doses minimales rapportées dans la littérature (cf. § 3.1.3.4).

La probabilité n'est pas nulle que plusieurs porcs asymptomatiques et virémiques proviennent d'un même élevage et soient abattus au même moment, augmentant ainsi la charge virale dans les cuves de collecte de sang.

Ainsi, l'abattage d'un ou de plusieurs porcs asymptomatiques et virémiques dans un abattoir conduit à une forte probabilité de contamination du sang collecté dans cet abattoir. La probabilité que cette contamination induise une charge virale importante dans un lot de sang collecté (supérieure à la dose minimale infectieuse) est estimée élevée par les experts si la dose minimale infectieuse retenue est inférieure à 10 TCID₅₀.

- **Probabilité de contamination du sang lors de son transport de l'abattoir à l'usine de transformation.**

Lors de ces opérations, deux phénomènes peuvent être envisagés : d'une part la contamination d'un lot de sang indemne par une contamination croisée issue d'un transport précédent ; d'autre part, l'enrichissement ou la dilution de la charge virale d'un lot de sang contaminé par les opérations de transfert et de mélange.

- Selon les éléments recueillis lors des auditions, le sang est transporté de l'abattoir à l'usine de production de plasma et d'hémoglobine dans un camion-citerne, la citerne étant dédiée ou non à l'espèce porc (hors de France, la citerne peut également transporter du sang de bovin). Au regard du risque PPA, les experts soulignent que le

²¹ Le Gecu a estimé la charge virale la plus probable dans le sang d'un animal asymptomatique virémique à 10^5 HAD₅₀/mL de sang

risque principal de contamination du sang lors de son transport de l'abattoir à l'usine de transformation, est le risque de contamination croisée avec des produits de porcs infectés qui auraient été transportés dans les mêmes citernes. Ce risque existerait si ces citernes étaient utilisées pour le transport de sous-produits animaux de catégorie C2, issues de porcs infectés par la PPA. Si cette probabilité est nulle à quasi-nulle dans un pays indemne (en fonction de son niveau de surveillance), elle peut être plus élevée dans un pays atteint partiellement par la PPA.

- Quant au devenir du sang issu d'un ou plusieurs porc(s) asymptomatique(s) et virémique(s) lors du transport, les opérations de transfert et de mélange de lots de sang des cuves de stockage vers les compartiments du camion-citerne, peuvent alternativement amener à une dilution ou à une augmentation de la charge virale par litre de sang. Selon les opérateurs auditionnés, la citerne est compartimentée en cinq cuves isothermes avec une vanne de vidange indépendante. Le volume des compartiments de la citerne varie de 2000 L à 7500 L pour un volume global d'une citerne d'environ 27 000 L. Selon leur taille, plusieurs cuves de stockage d'abattoir peuvent être vidées dans un compartiment de grande taille, pouvant entraîner une nouvelle dilution. En tenant compte des volumes des différents contenants, cette dilution pourra atteindre au maximum 1/5ème (1600 L [contenant abattoir] dilué dans 7500 L [compartiment citerne]). La charge virale contenue dans une cuve d'abattoir de 1600 L passerait de 50×10^1 HAD₅₀/mL à 10×10^1 HAD₅₀/mL après cette dilution.

Inversement, si plusieurs cuves de 1600 L se trouvaient contaminées dans un abattoir et étaient rassemblées dans un même compartiment de 7500 L d'un camion-citerne, leurs charges virales par litre de sang s'ajouteraient.

Néanmoins, les experts considèrent que les taux possibles de dilution ou d'augmentation de la charge virale par ces opérations restent faibles et ne changent pas sensiblement l'ordre de grandeur de cette charge virale.

Ainsi, lors de ce transport, les experts considèrent que la probabilité de contamination du sang, au moment du transport de l'abattoir à l'usine de transformation, est nulle à quasi-nulle lorsque les porcs, dont est issu le sang, proviennent d'un pays indemne. Cette probabilité peut augmenter si les porcs proviennent d'un pays partiellement atteint de PPA, mais elle dépend de la traçabilité des transports successifs et des produits concernés par ces transports. Si ce transport est correctement dédié, la probabilité augmente peu.

Les opérations de transfert et de mélange de lots au moment du transport peuvent soit diluer la charge virale par litre de sang ou au contraire l'augmenter. Toutefois, eu égard aux volumes concernés (identifiés lors des auditions), la dilution ou l'augmentation de la charge virale par ces opérations reste faible.

- ***Probabilité que le sang de porc reste contaminé à l'issue du procédé de transformation***

A l'arrivée des camions citernes à l'usine de transformation, le sang est déversé dans des cuves de 50.000 à 100.000 L, avant d'être transformé par lot de 130 000 L. Il s'opère donc une nouvelle dilution de la charge virale du lot initial de sang qui aurait été contaminé à l'abattoir. En faisant abstraction de l'éventuelle dilution opérée lors du transfert des cuves de l'abattoir aux contenants du camion-citerne, cette dilution conduirait à une charge virale finale avant traitement de $5 \cdot 10^{-4}$ HAD₅₀/mL, 10^{-3} HAD₅₀/mL, $5 \cdot 10^{-3}$ HAD₅₀/mL ou 10^{-2} HAD₅₀/mL selon les valeurs de charge virale calculées en sortie d'abattoir et selon la contenance de la cuve à l'usine de transformation (50 000 L ou 100 000 L)

Concernant la capacité d'inactivation des procédés de fabrication du plasma et de l'hémoglobine, les seuls résultats disponibles directement en lien avec le virus de la PPA sont ceux de l'étude de

Blasquez *et al.* (2018) qui rapporte une diminution de 4 log, en partant d'une charge initiale de $10^{5.77}$ TCID₅₀/mL en appliquant la méthode décrite au tableau 6. Compte tenu de la charge virale résiduelle dans le lot de sang à traiter, cette méthode pourrait conduire à une teneur finale en virus très inférieure à la dose minimale infectieuse.

Cette méthode est par ailleurs comparable au, procédé exigé pour les produits sanguins importés (auquel s'ajoutent 6 semaines de stockage du produit fini). Ce procédé avait été validé pour l'inactivation du virus de la DEP. Le Gecu note que ces deux virus ont en commun leur résistance importante et une dose infectieuse faible.

Par conséquent, compte tenu des procédés de fabrication du plasma et de l'hémoglobine par séchage, et des barèmes appliqués (température, pression, durée), et compte tenu de la charge virale résiduelle dans le lot de sang à traiter, si un ou un faible nombre d'animaux asymptomatiques et virémiques entraînent dans un abattoir, le Gecu estime que la probabilité de survie du virus PPA dans le produit sanguin transformé paraît extrêmement faible.

Il en serait de même pour des produits sanguins qui seraient obtenus selon les autres méthodes citées dans le tableau 5, compte tenu des barèmes appliqués pour les paramètres temps-température.

- ***Probabilité de contamination du produit fini (plasma, hémoglobine) au stockage***

Selon les opérateurs auditionnés, ces produits sont stockés pendant deux semaines minimum, délai permettant la détection éventuelle d'un foyer de PPA dans un élevage d'origine du sang, ce qui implique une traçabilité rigoureuse du sang, de l'élevage d'origine jusqu'au sac. Le plasma et l'hémoglobine étant dans des sacs ou big-bags, après avoir subi le procédé de séchage, le Gecu estime très peu probable une contamination croisée à ce stade. Une recherche de virus PPA peut, le cas échéant, permettre de confirmer l'absence de virus dans le plasma et l'hémoglobine obtenus, toutefois les experts soulignent la difficulté liée à la définition d'un échantillonnage représentatif dans un lot de produit fini.

En conclusion, compte tenu des différents phénomènes de dilution et des méthodes employées pour la production de plasma et d'hémoglobine, le Gecu estime quasi-nulle la probabilité de contamination, par le virus de la PPA, des produits sanguins transformés, sous réserve du respect strict des procédés de fabrication et de la traçabilité des produits.

Les experts soulignent néanmoins que cette évaluation de risque a reposé sur l'hypothèse qu'un seul élevage serait touché par la PPA et qu'un nombre faible d'animaux, asymptomatiques et virémiques, entreraient dans un abattoir et contamineraient un lot de sang. Il s'agit donc d'une situation favorable. Cette hypothèse n'est compatible qu'avec une situation de pays ou de région indemne (où un cas index n'aurait pas encore été détecté), dans lequel la surveillance de la PPA serait effective et suffisante pour détecter les premiers cas. Compte tenu de la difficulté de cette détection, plusieurs fois évoquée, les experts soulignent tout l'intérêt du stockage des produits finis durant 2 semaines (voire plus dans les pays où la surveillance est peu efficace) avant commercialisation.

Le Gecu insiste sur l'importance :

- de la vérification du statut sanitaire des élevages d'origine au regard de la PPA ;
- du maintien de la sensibilisation à la PPA et à sa détection clinique par les acteurs de la filière ;
- du respect des procédés de nettoyage-désinfection des camions, citernes et matériels (auges, centrifugeuse...) permettant notamment l'inactivation du virus PPA ;
- du respect d'une filière dédiée pour le transport du sang de porc provenant d'abattoirs où l'inspection ante- et post-mortem a vérifié l'absence de suspicion de PPA sur les animaux abattus ;
- du suivi des paramètres physiques lors des procédés de fabrication du plasma et de l'hémoglobine ;
- de la traçabilité des produits à toutes les étapes, de l'élevage de porc aux produits commercialisés.

3.4. Evaluation de la durée du vide sanitaire après décontamination au sein d'un élevage plein air ou en bâtiment après décontamination d'un foyer.

Concernant la durée du vide sanitaire, l'arrêté du 11 septembre 2003 fixant les mesures de lutte contre la peste porcine africaine²² mentionne 40 jours après achèvement des opérations de nettoyage et désinfection, et précise de détruire les déchets.

En bâtiment d'élevage, après des opérations correctement conduites de nettoyage et de double désinfection avec un produit efficace comme le Virkon®, et vérification de l'efficacité de ces opérations, la durée du vide sanitaire, pourrait correspondre au temps nécessaire pour que le bâtiment soit parfaitement sec (SciCom 2019).

En plein air, cette durée est plus difficile à estimer. Une décontamination des parcours pourrait être envisagée notamment le recours à la chaux vive du fait de l'action conjointe du pH et de la température (l'utilisation du Virkon® semble peu envisageable compte tenu notamment de son prix et de sa disponibilité). En outre, les élevages de porcs plein air ont souvent deux jeux de parcours pour les truies notamment, ce qui pourrait permettre de réaliser une rotation, avec un vide de plusieurs mois sur l'un des parcours.

Pour ces élevages plein air, l'arrêté du 2003 prévoit, après le vide sanitaire de 40 jours, la réintroduction, dans un premier temps, de porcelets sentinelles issus d'élevages indemnes et séronégatifs. Ils font l'objet d'un suivi clinique et d'une recherche d'anticorps dirigés contre le virus de la PPA 45 jours après leur introduction dans l'élevage. Des résultats négatifs permettent le repeuplement de l'élevage.

En l'absence de nouvelles données disponibles sur cette question, le Gecu estime cohérente cette démarche. Il souligne l'intérêt de l'introduction de porcs sentinelles, moyen sensible permettant de vérifier la persistance du virus de la PPA. Ainsi, expérimentalement, ce virus, notamment une souche Georgia 2007/1 traitée par la chaleur, a pu ne pas être isolé sur cellules mais un porc a pu être infecté après inoculation (Le Potier communication personnelle).

Le Gecu souligne le manque de données disponibles pour établir une durée de vide sanitaire, et sur les traitements efficaces dans des parcours plein air, ainsi que les difficultés pratiques à traiter ces parcours.

²² <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000611881&dateTexte=20190704>

3.5. Evaluation du risque de contamination des animaux par le virus de la PPA à partir des aliments pour animaux *via* l'utilisation de matières premières végétales contaminées par la faune sauvage, destinées à la fabrication d'aliments pour porc (fabrication à la ferme et industrielle)

Cette question a été traitée par l'Efsa dans un avis scientifique publié en 2014 (Efsa 2014) qui a hiérarchisé les différentes matrices selon leur probabilité d'être contaminées par le virus de la PPA et de diffuser l'infection en Europe.

En l'absence de données bibliographiques disponibles, l'Efsa a procédé à une élicitation des connaissances d'experts pour conduire cette hiérarchisation. Vingt-et-un experts ont été sollicités pour juger de l'aptitude des différentes matrices à contenir le virus de la PPA et à le maintenir infectieux.

Les experts se sont prononcés sur le niveau de risque de contamination des différentes matrices et de maintien de l'infection au cours du transport à travers l'Europe. Cinq scores de risque étaient proposés (*cf.* tableau 9).

Tableau 9. Définition des niveaux de risque de contamination des différentes matrices par le virus de la PPA et du maintien du virus infectieux au cours du transport en Europe, d'après Efsa 2014

Score	Niveau de risque	Définition
5	Très élevé	Dans quasiment tous les cas, la matrice pourrait être contaminée et maintenir le virus infectieux au cours du transport en Europe
4	Elevé	Dans la plupart des cas, la matrice pourrait être contaminée et maintenir le virus infectieux au cours du transport en Europe
3	Modéré	Dans certains cas, la matrice pourrait être contaminée et maintenir le virus infectieux au cours du transport en Europe
2	Faible	Dans de rares cas, la matrice pourrait être contaminée et maintenir le virus infectieux au cours du transport en Europe
1	Très faible	Dans de très rares cas exceptionnels, la matrice pourrait être contaminée et maintenir le virus infectieux au cours du transport en Europe
0	Négligeable	Suffisamment faible pour être ignoré

La hiérarchisation a conduit aux résultats suivants (tableau 10)

Tableau 10. Hiérarchisation des matrices selon leur aptitude à être contaminées par le virus de la PPA et à le maintenir infectieux au cours du transport en Europe, d'après Efsa 2014

Les denrées d'origine végétales figurent en gras

Classement	Matrice
Très élevé	Viande congelée
Elevé	Viande réfrigérée (« chilled ») Sanglier transporté vivant Porc transporté vivant Graisse cutanée Camions de transport d'animaux contaminés (intérieur)
Modéré	Viande fumée Viande salée, fermentée, séchée (+/- épicée) Viande salée-séchée Tout véhicule contaminé (extérieur) Lisier Aliment pour animaux (au sens d'eaux grasses et/ou d'aliments sortis d'élevages contaminés) Litière Supports inertes
Faible	Personne sans lien direct avec l'élevage de porc Tiques
Très faible	Végétaux Cultures, récoltes Rongeurs Animaux de compagnie Foin et paille Insectes piqueurs
Négligeable	Viande cuite à 70°C pendant 30mn

Il ressort de cette évaluation que les matières premières d'origine végétale pour l'alimentation animale se situent parmi les dernières matrices, à un niveau très faible de risque selon l'échelle de risque reprise au tableau 9.

Cet avis scientifique de l'Efsa avait été rendu avant que la PPA n'entre en Europe. Une actualisation de cet avis est prévue pour 2020 par l'Agence européenne. Un avis de l'AFSCA sur cette question a été publié le 20 septembre 2019 (Afsca, 2019).

Le Gecu recommande d'attendre la mise à disposition de l'ensemble de ces avis, qui devraient tenir compte des données épidémiologiques récentes sur la PPA, pour juger si une évaluation propre à la France s'avèrerait nécessaire.

3.6. Evaluation des méthodes alternatives de traitement thermique du sol utilisées dans le domaine végétal pour la décontamination de la PPA.

La saisine fait référence à des dispositifs tels que des désherbeurs thermiques à eau chaude, désherbeurs thermiques à air chaud pulsé, etc.

Pour apporter une réponse, la question du couple temps-température appliqué au sol doit être expertisée par le Gecu. Actuellement, il n'y a pas de données disponibles sur l'augmentation de température obtenue sur le sol avec ces désherbeurs thermiques, donc sur une éventuelle destruction du virus de la PPA. Par conséquent, ces méthodes alternatives ne peuvent pas être évaluées. Il convient de souligner les risques de dispersion de particules virales du fait des pressions appliquées.

Le Gecu note qu'aux Etats-Unis, des brûleurs (Red-Dragon et Bio-Burner^[1]) sont commercialisés afin de traiter les sols dans les élevages de volailles. Selon une description du Bio Burner, celui-ci induirait une température en surface, pendant le brûlage, de 480°C. Le temps d'exposition serait d'environ 12 secondes. Immédiatement après passage du BioBurner, la température serait d'environ 370°C, mais elle diminuerait à environ 100°C au bout de 5 secondes et 50°C dans les 60 secondes suivantes. Un essai a conduit, selon les auteurs, à une diminution de 99% de l'ensemble des bactéries recherchées^[2] immédiatement après brûlage. Cependant, une recherche de bactéries 12h après brûlage montre une tendance à leur augmentation (Watkins, Payne et Waldroup 1999). Plusieurs observations de terrain rapportent une inefficacité de ces brûleurs, par exemple sur les spores de Clostridies du fait notamment de leur action très superficielle, par exemple sur de la litière ou des sols en terre battue (Vaillancourt communication personnelle). Il convient enfin de noter les risques d'incendie liés à ces procédés.

3.7. Conclusions et recommandations du Gecu PPA

Le Gecu souligne que les réponses aux questions ont été apportées en tenant compte des données disponibles à la date de publication de l'avis. Ces réponses sont assorties d'un niveau d'incertitudes élevé compte tenu (1) du manque de connaissances sur le virus de la PPA, la dose infectieuse, la survie de virus infectieux dans l'environnement, la diffusion du virus à partir d'un suidé vivant ou d'un cadavre de sanglier, le niveau d'efficacité des traitements des produits sanguins, et (2) de la très forte variabilité des nombreux facteurs susceptibles d'influencer la diffusion environnementale du virus de la PPA.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Anses a été saisie par la DGAL pour évaluer différentes composantes du risque de dissémination du virus de la PPA par voie environnementale ou par des activités anthropiques associées à l'élevage / abattage / commercialisation en vue de limiter les risques de son introduction par d'autres voies que la diffusion naturelle par la faune sauvage (en particulier par l'importation de produits susceptibles de diffuser la contamination par l'alimentation) et de préparer les outils de gestion d'une éventuelle situation d'introduction du virus sur le territoire français.

L'agence souligne les efforts des experts pour construire leurs recommandations sur des approches quantitatives, et rejoint le constat du Gecu quant au niveau d'incertitude associé à ces approches. D'une manière générale, elle note que des données et travaux nouveaux sont attendus pour faire progresser les modèles et que ces résultats pourraient être de nature à faire évoluer les

[1] <https://flameengineering.com/products/red-dragon-poultry-house-flame-sanitizer>

[2] *E. coli*, coliformes, Salmonella et bactéries aérobies

recommandations formulées. Dans cette version complétée de l'avis, l'analyse qualitative sur le risque de dissémination environnementale par les eaux de ruissellement a été approfondie par une modélisation quantitative sur base de modèles stochastiques, ce qui a permis de mieux cerner la « fraction pivot » autour de 20%, au-delà de laquelle un élevage de petite taille (inf. à 40 porcs) en parcours de plein air deviendrait émetteur avec une probabilité qui n'est plus négligeable.

S'agissant des risques associés à l'introduction dans les circuits d'abattages d'animaux asymptomatiques, il paraît important que des travaux de recherche soient menés sur les observations dans certains pays (Estonie, Lettonie) d'évolution des souches virales, conduisant à une survie accrue d'animaux porteurs. Si une telle évolution concernait des souches susceptibles de contaminer à termes des animaux sains, elle remettrait en cause les conclusions de l'expertise et, potentiellement, les dispositions de gestion en vigueur.

De plus, l'Anses rejoint les experts sur l'importance d'une sensibilisation des différents acteurs de la filière d'élevage de porcs à la PPA, incluant le partage des enjeux d'une détection précoce et d'une déclaration rapide de l'infection en élevage et le respect des mesures de biosécurité en élevage. Sans se prononcer sur le terrain de l'indemnisation, qui relève des autorités de gestion, elle enjoint les autorités à adopter les mesures qui favorisent ces signalements précoces, qui sont favorables au traitement d'ensemble de la situation. La modélisation faite dans le cadre du complément de cet avis a illustré l'importance de cette détection précoce, s'agissant du risque de contamination vers l'environnement par ruissellement et montré qu'il y avait une fenêtre temporelle pour que cette action soit efficace.

L'Anses endosse les conclusions du Gecu et mentionne le fait que les mesures relatives aux risques de transfert associés à des échanges économiques gagnent à être définies de manière coordonnée au niveau de l'UE.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Peste porcine africaine, sanglier, porc, diffusion
African swine fever, wild boar, swine, spread

BIBLIOGRAPHIE

Afsca (2019) Evaluation du risque et des mesures de réduction du risque d'introduction de la peste porcine africaine (PPA) dans les exploitations porcines via les cultures et leurs produits provenant des zones I et II réglementées pour la PPA. *SciCom* 2019/17.

Andraud M, Halasa T, Boklund A, Rose N (2019) Threat to the French Swine Industry of African Swine Fever: Surveillance, Spread, and Control Perspectives. *Front Vet Sci.*, 6:248. doi: 10.3389/fvets.2019.00248.

Anses (2016a) Appui scientifique et technique 2015-SA-0178 du relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection lors de dangers sanitaires

Anses (2016b) Avis 2016-SA-0196 relatif aux procédés efficaces de désinfection des parcours en exploitations de volailles

Anses (2018) Avis 2018-SA-0251 du 20 décembre 2018, relatif à une évaluation du risque lié au dépeuplement d'élevages porcins, opérations mises en œuvre en cas de foyers de PPA en élevage

Anses (2019) Avis 2018-SA-0237 du 4 avril 2019, relatif à la mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA)

Blázquez E, Pujols J, Segalés J, Rodríguez C, Ródenas J, Kalmar ID, Heres L, Polo J (2018) Effect of drying process on inactivation of African swine fever virus inoculated in concentrated porcine plasma commercial spray.

<https://www.eapa.biz/sites/eapa/files/inline-files/Effect%20on%20Spray%20on%20ASFV-Abstract%20for%20Leman%20China%20Conference-Final-2.pdf>

Carrascosa AL, Bustos MJ, de Leon P (2011) Methods for Growing and Titrating African Swine Fever Virus: Field and Laboratory Samples. *Current Protocols in Cell Biology*. Chapter 26, Unit 26.14. doi: 10.1002/0471143030.cb2614s53.

Cassagne MH (2002) Gestion des indemnités des pertes économiques autour des foyers de fièvre aphteuse : la réponse française. *Rev sci tech Off int Epiz*, 21 (3), 815-822.

de Carvalho Ferreira HC, Weesendorp E, Elbers ARW, Bouma A, Quak S, Stegeman JA, Loeffen WLA (2012) African swine fever virus excretion patterns in persistently infected animals: A quantitative approach. *Vet Microbiol* 160, 327–340.

de Carvalho Ferreira HC, Backer JA, Weesendorp E, Klinkenberg D, Stegeman JA, Loeffen WLA (2013) Transmission rate of African swine fever virus under experimental conditions. *Vet Microbiol* 165, 296–304.

Dayaram A., Franz M., Schattschneider A., Damiani A.M., Bischofberger S., Osterrieder N., Greenwood A.D. (2017) Long term stability and infectivity of herpesviruses in water. *Scientific Reports* 7:46559 DOI: 10.1038/srep46559

EFSA (2014) Scientific Opinion on African swine fever. *EFSA Journal* 12(4) 3628.

Forth JH, Amendt J, Blome S, Depner K, Kampen H (2018) Evaluation of blowfly larvae (Diptera: *Calliphoridae*) as possible reservoirs and mechanical vectors of African swine fever virus. *Transbound Emerg Dis*. 65(1):e210-e213. <https://doi.org/10.1111/tbed.12688>.

Gallardo C, Nurmoja I, Soler A *et al.* (2018) Evolution in Europe of African swine fever genotype II viruses from highly to moderately virulent. *Vet Microbiol* 219, 70-79.

Gallardo C, Soler A, Rodze I, Nieto R, Cano-Gomez C, Fernandez-Pinero J, Arias M (2019) Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. *Transbound Emerg Dis* 66, 1399–1404.

<https://doi.org/10.1111/tbed.13132>

Guinat C, Reis AL, Netherton CL, Goatley L, Pfeiffer DU, Dixon L (2014) Dynamics of African swine fever virus shedding and excretion in domestic pigs infected by intramuscular inoculation and contact transmission. *Vet Res* 45, 93.

Guinat C, Wall B, Dixon L, Pfeiffer DU (2016) English Pig Farmers' Knowledge and Behaviour towards African Swine Fever Suspicion and Reporting. *PLoS One* 11(9).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161431>

Guberti V, Khomenko S, Masiulis M, Kerba S (2018) GF-TADs Handbook on ASF in wild boar and biosecurity during hunting. OIE-FAO, 111 pages.

http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/ASF/GF-TADs_Handbook ASF_WILDBOAR_version_2018-12-19.pdf

Gulenkin VM, Korennoy FI, Karaulov AK, Dudnikov SA (2011) Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Prev Vet Med* 102, 167–174.

Hallet L (2003) Les modes de collaboration entre vétérinaires officiels, vétérinaires privés et organisations d'éleveurs. *Rev sci tech Off int Epiz*, 22 (2), 523-532.

Kipanyula MJ, Nong'ona SW (2017) Variations in clinical presentation and anatomical distribution of gross lesions of African swine fever in domestic pigs in the southern highlands of Tanzania: a field experience. *Trop Anim Health Prod* 49, 303–310. DOI 10.1007/s11250-016-1193-4.

Munoz F, Mercier A, Lancelot R, Cauchard J (2019) Estimation of the spread rate of epidemics. The case of African Swine Fever in wild boar populations from Belgium. Symposium de l'AESA, Liège, Belgique, 6 Mai 2019. 5 p. http://agritrop.cirad.fr/592300/13/paper_FMunoz.pdf

Niederwerder MC, Stoian AMM, Rowland RRR, Drits SS, Petrovan V, Constance LA, Gebhardt JT, Olcha M, Jones CK, Woodworth JC, Fang Y, Liang J, Hefley TJ (2019) Infectious Dose of African Swine Fever Virus When Consumed Naturally in Liquid or Feed. *Emerg Inf Dis* 25(5), 891-897.

<https://doi.org/10.3201/eid2505.181495>

Nurmoja I, Motusa K, Kristianc M, Niinea T, Schulz K, Depner K, Viltrop A (2018) Epidemiological analysis of the 2015–2017 African swine fever outbreaks in Estonia. *Prev Med Vet*

<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.10.001>

OIE (2020). Fiche Technique de l'OIE sur la peste porcine africaine : <https://www.oie.int/doc/ged/D13955.PDF> (consulté le 19 mars 2020).

Olesen SA, Lohse L, Boklund A, *et al.* (2017) Transmission of African swine fever virus from infected pigs by direct contact and aerosol routes. *Vet Microbiol* 211, 92-102.

Pabœuf F (2011) Approche expérimentale de deux systèmes de production porcine différenciés par le mode de logement: contribution à la recherche d'un développement durable. Thèse, AgroParisTech, 184 p.

Perry B, Grace D (2009) The impacts of livestock diseases and their control on growth and development processes that are pro-poor. *Philos trans R Soc Lond Ser B Biol Sci* 364(1530), 2643-55.

Pietschmann J, Guinat C, Beer M, *et al.* (2015) Course and transmission characteristics of oral low-dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate. *Arch Virol* 160, 1657–1667.

Plowright W, Parker J (1967) The stability of African swine fever virus with particular reference to heat and pH inactivation. *Archiv für die gesamte Virusforschung* 21(3-4), 383-402.

doi: 10.1007/BF01241738.

Probst C, Globig A, Knoll B, Conraths FJ, Depner K. 2017 Behaviour of free ranging wild boar towards their dead fellows: potential implications for the transmission of African swine fever. *R. Soc. open sci.* **4**: 170054. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.170054>

Sanogo M, Abatih E, Saegerman C (2014) Bayesian versus frequentist methods for estimating true prevalence of disease and diagnostic test performance. *Vet J* 202(2): 204-7. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.08.002

Watkins SE, Payne JB, Waldroup AL (1999) The Bio-Burner.
https://poultry-science.uark.edu/_resources/PDFs/avian_advice_vol1.1.pdf

ANNEXE 1

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE D'EXPERTISE COLLECTIVE EN URGENCE

Président

M. Claude SAEGERMAN – Université de Liège - Compétences en épidémiologie, évaluation de risque, infectiologie et biosécurité

Membres

M. Eric BAUBET – ONCFS - Compétences en sanglier, écologie des populations

Mme Catherine BELLOC – ONIRIS – Compétences en infectiologie, élevages de porc, épidémiologie

M. Eric COLLIN – Clinique vétérinaire - Compétences en pratique vétérinaire en élevage

M. Claude FISCHER – Haute Ecole du Paysage, d'Ingénierie et d'Architecture, Genève. Filière Gestion de la Nature. Compétences en faune sauvage, écologie des populations

M. Jean HARS – ex-ONCFS - Compétences en interface faune sauvage-élevages

Mme Marie Frédérique LEPOTIER – Anses - Compétences en virologie, infectiologie, LNR pestes porcines

M. Jorge Ramon OLVERA – Université autonome de Barcelone - Compétences en écologie des populations de sanglier

Mme Carole PEROZ-SAPEDE – ONIRIS - Compétences en Maladies réglementées, biosécurité

M. Nicolas ROSE – Anses - Compétences en épidémiologie, modélisation

Mme Sophie ROSSI – ONCFS - Compétences en faune sauvage, écologie des populations, pestes porcines

M. Jean Pierre VAILLANCOURT – Université de Montréal - Compétences en biosécurité

Rapporteurs

M. Matthieu FOURNIER – Université Rouen Normandie – Compétences en hydrologie, transferts des éléments biologiques dans l'environnement

Mme Nathalie LE FLOC'H – INRAE – Compétences en alimentation des porcs

Mme Elodie MONCHATRE-LEROY - Anses Nancy - Compétences en virologie

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Catherine COLLIGNON - chef de projet scientifique de l'unité Evaluation des risques liés à la Santé, à l'Alimentation et au Bien-être des animaux – Anses

Mme Charlotte DUNOYER – cheffe de l'unité Evaluation des risques liés à la Santé, à l'Alimentation et au Bien-être des animaux – Anses

Mme Florence ETORE – Adjointe à la cheffe de l'unité Evaluation des risques liés à la Santé, à l'Alimentation et au Bien-être des animaux – Anses

Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET – Anses

ANNEXE 2 : LETTRE DE SAISINE

2019-SA-0081



SDSPA-2019-24-D

COURRIER ARRIVE

26 AVR. 2019

DIRECTION GENERALE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction Générale de l'Alimentation
Bureau des Intrants et de la Santé Publique en Elevage

Le Directeur Général de l'Alimentation

Suivi par : Christèle Mathonière
Tel : 01 49 55 81 66

à

bispe.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr
251 rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15

Monsieur le Directeur Général
de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de
l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail
27-31, avenue du Général Leclerc - B.P. 19
94701 MAISONS ALFORT CEDEX

Paris, 24 AVR. 2019

Objet : Demande d'avis de l'ANSES sur l'évaluation du risque relatif à la dissémination du virus de la PPA par les cadavres et les sous-produits animaux issus d'animaux d'élevage/de la faune sauvage, en abattoir/élevage, et par les aliments pour animaux.

Conformément aux articles L. 1313-1 et 1313-3 du Code de la santé publique, j'ai l'honneur de solliciter un avis de l'Anses sur la dissémination du virus de la PPA par les cadavres et les sous-produits animaux issus d'animaux d'élevage/de la faune sauvage, en abattoir/élevage, ainsi que par les aliments pour animaux. Les questions ont été classées selon un ordre de priorité décroissant. Dans le cadre de la planification, mes services se préparent, aux différents échelons, à la mise en œuvre des mesures de lutte contre la PPA afin d'éviter tout risque de dispersion du virus.

1- Evaluation du risque de propagation de la PPA et donc de la contamination des suidés domestiques et sauvages via les eaux de nettoyage ou de lessivage par les eaux pluviales, de la persistance du virus de la PPA dans le sol et mesures préconisées.

A - Différentes situations peuvent être rencontrées dans les parcours plein air de suidés domestiques ou en parcs de chasse, ou en milieu naturel:

- présence d'animaux ne présentant pas de symptômes, mais porteurs et excréteurs du virus via les fèces et surtout l'urine ;
- présence d'animaux porteurs du virus, exprimant la maladie et excréteurs du virus via les fèces et en particulier l'urine ;
- présence des cadavres d'animaux ayant succombé à la maladie en forêt.

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales par le ruissellement des lisiers (fèces + urine avec ou sans litière usagée) contaminés en dehors de ces parcours ? Est-ce que le virus ainsi transporté pourrait représenter une dose infectante pour d'autres animaux sensibles ? Est-ce que

l'effet des UV pourrait permettre de réduire ce risque? Des données sont-elles disponibles sur les distance et profondeur qui pourraient être effectives ?

Quel est le risque de contamination par fouissement d'un tel sol par les animaux?

B- En cas de détection en abattoir, en porcherie ou au sein du hall d'abattage, les eaux servant au nettoyage de ces installations sont très souvent canalisées vers un même exutoire par exemple avant d'intégrer les stations d'épuration dédiées à l'abattoir ou intégrées à une STEP collective. En abattoir, ces eaux sont dégrillées afin de limiter la taille des particules qu'elles véhiculent à 6mm.

Peut-on évaluer la persistance du virus dans un milieu liquide contenant peu de matières organique ? Le rapport de la saisine N°2018-SA-0227 fait état d'une persistance de 50 jours en été et 176 jours en hivers mais après contamination expérimentale d'une eau douce à 1/1000 et dans un contenant fermé enfoui dans le sol.

Un traitement à la chaux qui n'agirait que par action du pH>12 peut-il être jugé suffisant pour réduire ce risque ?

C- Entreposage de fumier mélangé avec de la chaux à l'extérieur suite à la décontamination d'un bâtiment

Le virus de la PPA pourrait-il être véhiculé via les eaux pluviales et/ou s'infiltrer dans le sol ?

Après quelle durée de stockage une application dans les sols d'un tel lisier chaulé serait-elle envisageable ?

2- Évaluation du risque de contamination par le virus de la PPA des animaux par les aliments pour animaux :

Via l'utilisation de produits sanguins dans des aliments composés pour les porcelets notamment, et pour le petfood, transformés conformément à la section 2 du chapitre II de l'annexe X du R4142/2011.

3- Évaluation de la durée du vide sanitaire après décontamination au sein d'un élevage plein air ou en bâtiment après décontamination d'un foyer.

4- Évaluation du risque de contamination par le virus de la PPA des animaux par les aliments pour animaux :

Via l'utilisation de matières premières végétales contaminées par la faune sauvage destinées à la fabrication d'aliments pour porc (fabrication à la ferme et industrielle).

5- Évaluation des méthodes alternatives de traitement thermique du sol utilisées dans le domaine végétal tels que des désherbeurs thermiques à eau chaude, désherbeurs thermiques à air chaud pulsé, etc.

Je vous remercie de bien vouloir apporter une réponse aux questions 1, 2 et 3 d'ici le 30 mai 2019, aux questions 4 et 5 en juillet 2019.

Destinataires pour la réponse mail :

Destinataires DGAL : bispe.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr , sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr, christele.mathoniere@agriculture.gouv.fr , saisines-anses.dgal@agriculture.gouv.fr

Mes services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Je vous remercie de bien vouloir accuser réception de la présente demande.


Le Directeur Général de l'Alimentation,
Patrick DEHADMONT

ANNEXE 3

Données bibliographiques relatives à la persistance (survie) du virus de la PPA dans différentes matrices analysées dans l'avis Anses 2018-SA-0237

Matrice	Survie	Méthode de « détection » du virus	Ref.
Air	Souche POL/2015/Podlaskie/Lindholm isolée à partir d'un sanglier peut infecter le porc et se transmettre de porc en porc par contact direct mais également <i>via</i> l'air		Olesen <i>et al.</i> 2017
	Demi-vie du virus 14 min Demi-vie du virus 19 min	PCR Titration	de Carvalho Ferreira <i>et al.</i> 2013
	Génome viral détecté (jusqu'à 10 ^{3.2} TCID ₅₀ eq. ²³ /m ³) dans l'air des salles hébergeant des porcs infectés, à partir de 4 jours post-infection et jusqu'à la fin de l'expérience, soit 70 jours post-infection	qPCR	de Carvalho Ferreira <i>et al.</i> 2013
	La demi-vie du virus de 5 minutes dans aérosols en conditions d'humidité relative supérieure à 30 % inactivé si l'humidité relative dépasse les 50 %	<i>Interprétation équivoque</i>	Donaldson et Ferris 1976
	Sous les tropiques, où l'humidité relative est importante, des porcherie contaminées ne demeureraient pas infectieuses pour des porcs domestiques pendant très longtemps (moins de cinq jours)	Etude réalisée en inoculant de porcs	Montgomery 1921
	Détection de l'ADN viral dans l'air des cases de porcs présentant des signes cliniques, mais pas dans l'air du couloir entre ces cases		Olesen <i>et al.</i> 2017
Eau	Survie 50 jours en été et 176 jours en hiver dans un échantillon d'eau douce enfoui dans le sol dans un contenant en verre, à une profondeur de 12 cm		EFSA, 2014, Chenais <i>et al.</i> 2019, K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba, 1964
	eau contaminée avec un titre viral de 10 ^{5.5} HAU ₅₀ /cm ³ s'est révélée positive en rtPCR après 60 jours de stockage entre 22 et 25°C, mais aucune particule infectieuse n'a pu être isolée en culture cellulaire	rtPCR et culture de cellules	Sindryakova <i>et al.</i> 2016
Tissus et cadavres	Survie longtemps dans de nombreux tissus dont muscles (environnement protéique)		Mebus <i>et al.</i> 1997, McKercher <i>et al.</i> 1987
	tissus stockés à 20°C, les demi-vies entre 1,7 et 7,4 jours (rate le plus longtemps)		de Carvalho Ferreira <i>et al.</i> 2014),
	Moelle osseuse de cadavres en putréfaction, « <i>longues périodes</i> »		McKercher <i>et al.</i> 1987, Mebus <i>et al.</i> 1997, Penrith et Vosloo 2009, Gale 2004
Sang et sérum	Virus isolé de sang ou sérum conservé à temp. ambiante pendant 18 mois		EFSA, 2010
	Sang putréfié 15 sem. à temp. ambiante		Sánchez-Vizcaino, Mur, et Martínez-López 2013, Sánchez-Vizcaino <i>et al.</i> 2012, OIE 2013, USDA 2013
	2165 j sang lyophilisé 1 526 jours dans du sang et du sérum stockés en ampoules scellées 2 230 jours dans du sang défibriné maintenu à 4-6°C sans conservateur		EFSA Panel on Animal Health Welfare 2014, Chenais <i>et al.</i> 2019, communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964
Fèces et urines	ADN viral > 2 ans lorsque les fèces issues de porcs infectés par différentes souches (Brazil'78, Malta'78 et Netherlands'86) sont stockées à des		de Carvalho Ferreira <i>et al.</i> 2014

²³ Median tissue culture infective dose equivalents²⁴ 50% haemadsorbing unit – unité hémadsorbante 50

	températures ne dépassant pas 12°C 15j à 30°C la demi-vie de l'ADN viral 8-9 jours dans des fèces de porcs infectés par la souche Georgia 2007/1, ceci indépendamment de la température de stockage en laboratoire		Davies <i>et al.</i> 2017
	Virus résiste dans des matières fécales pendant 11 jours après stockage à température ambiante et à l'obscurité		Sánchez-Vizcaíno, Mur, et Martínez-López 2013, Montgomery 1921).
	fèces demeureraient infectieuses pendant 8,5 jours lorsque stockées à 4°C, et pendant seulement 3,7 jours en cas de stockage à 37°C		Davies <i>et al.</i> 2017
	les urines demeureraient infectieuses pendant 15,3 jours si stockées à 4°C 2,9 jours en cas de stockage à 37°C		Davies <i>et al.</i> 2017
	45 jours dans de l'urine contaminée stockée dans un contenant en verre enterré à une profondeur de 12 cm	inoculation à des porcs naïfs.	EFSA, 2014, Chenais <i>et al.</i> 2019, Communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964
	Des incertitudes portent sur la persistance du virus dans les stations d'épuration (STEP) et dans les boues de STEP qui peuvent être utilisées par les éleveurs pour épandage		Avis Anses 2018-SA-0251
Salive	il est rare de pouvoir isoler des particules virales infectieuses à partir de la salive.		
Cadavres	virus viable dans des cadavres de sangliers contaminés expérimentalement, par du sang infecté, pendant 81 jours (en été-automne) après enfouissement dans le sol à une profondeur de 12 cm, et pendant 192 jours lorsque laissés à la surface du sol		l'EFSA, 2014 d'après Kovalenko <i>et al.</i> 1964
Supports inertes contaminés par matières infectieuses issues de porcs malades(sang, sécrétions oro-nasales et génitales ou encore les excréments)	la litière, les aliments des animaux, les équipements de l'élevage, les vêtements du personnel, les véhicules de transport		Penrith et Vosloo 2009
	le sol et l'eau de lavage		Chenais <i>et al.</i> 2017
	sang déposé sur une surface en bois pendant 70 jours		Montgomery 1921) repris dans (OIE 2013, USDA 2013
	112 jours dans du sang déposé sur des briques enfouies dans le sol à une profondeur de 12 cm, et pendant 81 jours dans des boîtes enterrées dans le sol du jardin ou dans le sol d'une forêt (Chenais <i>et al.</i> 2019, EFSA 2014, K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964
Environnement (contaminé par excréments, sang, etc.)	Une contamination environnementale massive est possible lors de saignement, par exemple lors d'autopsie, en cas de blessure lors de bagarre, <i>via</i> une diarrhée hémorragique		Spickler 2015 (et ? Davies <i>et al.</i> 2017, Guinat <i>et al.</i> 2014, Gallardo <i>et al.</i> 2017, Nurmoja <i>et al.</i> 2018)

ANNEXE 4

Analyse de la publication de Niederwerder *et al.* (2019)

Il s'agit d'une estimation de la dose minimale infectieuse *via* de l'eau ou de l'aliment contaminé grâce à un modèle statistique utilisant des données expérimentales.

Dans l'expérimentation le statut des animaux est évalué par trois méthodes : PCR sur rate, PCR sur sérum et isolement viral sur rate. Les auteurs prennent en compte le fait qu'ils ont conduit trois tests non indépendants sur les mêmes animaux et que chacun des tests peut présenter un défaut de sensibilité de détection lié au moment de réalisation du prélèvement. Ils prennent en compte ce défaut de sensibilité sur les tests pour estimer la probabilité d'infection vraie de l'animal conditionnelle au statut réellement observé dans l'expérimentation, et à l'estimation qui est faite du défaut de sensibilité des analyses. Ceci a pour conséquence que, pour une dose infectieuse donnée, ils assument que la probabilité d'infection est possible même si tous les résultats ont conduit à une absence de détection.

Sur le plan des données elles-mêmes, les auteurs exploitent un plan incomplet puisque seules quelques couples dose-matrice sont évalués. En effet le principe est de séquentiellement choisir une dose infectieuse inférieure ou supérieure selon ce qui a été observé dans le réplicat précédent. Ce qui fait que pour l'eau ils explorent consécutivement (en TCID₅₀) 10³, 10², 10¹, 10⁰, 10², 10², 10⁴, 10⁰ et pour l'aliment : 10⁴, 10³, 10⁵, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁷, 10⁸, 10⁶.

Avec ce dispositif itératif, les auteurs explorent la dose infectieuse à chaque réplicat avec 5 animaux ou parfois moins (3, 2 ou 1). Ceci conduit aussi à répéter parfois deux doses identiques avec des résultats totalement divergents : par exemple, pour 10⁰ dans l'eau sur un réplicat ils ont 3/3 positifs et sur le second 0/5 de positif.

La relation dose infectieuse et probabilité d'infection est modélisée par un modèle de type Spline (permet de représenter une courbe de type sigmoïde) avec deux contraintes : la probabilité d'infection augmente avec la dose et la relation est continue.

Le modèle utilisé fait appel à une approche bayésienne pour prendre en compte la réalisation des trois tests sur le même individu et la sensibilité du test en fonction du moment de prélèvement sur l'animal. Cette approche Bayésienne suppose la définition de distributions *a priori* sur les paramètres. Pour la probabilité d'infection, le prior est une loi uniforme entre 0 et 1 donc non informative. Il existe cependant d'autres distributions *a priori* pour des variables intermédiaires et le détail de ces priors est difficile à comprendre précisément avec l'annexe fournie dans l'article.

Les auteurs modélisent également une exposition répétée des mêmes doses (3 et 10 fois).

Il n'y a pas de présentation d'analyse d'incertitude ou de sensibilité sur les priors utilisés.

Les résultats impliquent pour l'eau que la courbe dose réponse n'intercepte pas le 0 : dès la première particule on est au-delà de 25% de probabilité d'infection²⁵ alors que la progression est ensuite quasi linéaire entre 1 log et 4 logs.

²⁵ D'après la figure, l'intervalle de confiance va de 0,125 à 0,62 environ, mais la borne inférieure est déjà largement supérieure à 0

ANNEXE 5

Figure 12 : Distribution des charges virales dans l'eau ruisselée estimées pour les valeurs > 1 TCID₅₀/ml. N est le nombre d'évènements pour lesquels des valeurs de charge > 1TCID₅₀/ml/ha/j sont obtenus

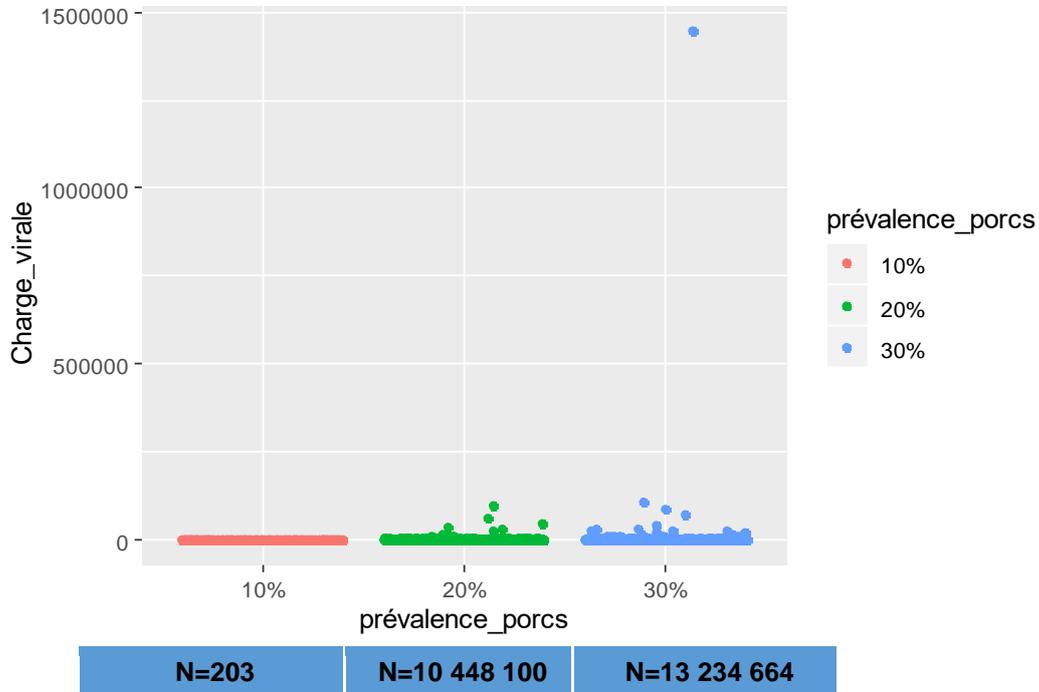


Figure 13 : Distribution des charges virales (en log₁₀) dans l'eau ruisselée estimées pour les valeurs > 10⁴ TCID₅₀/ml. N est le nombre d'évènements pour lesquels des valeurs de charge > 10⁴TCID₅₀/ml/ha/j sont obtenus

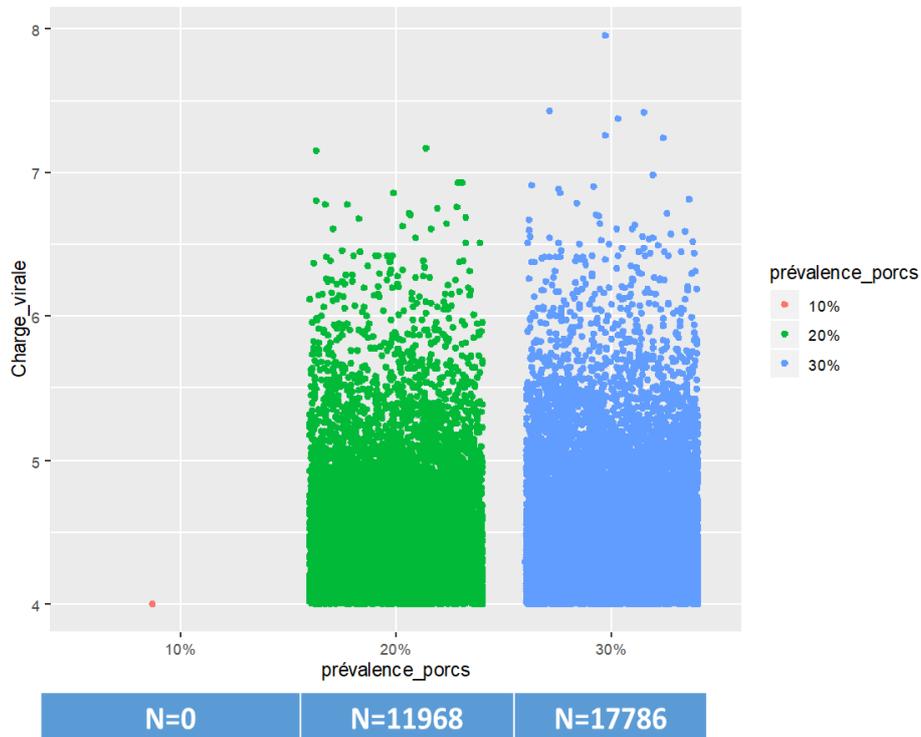
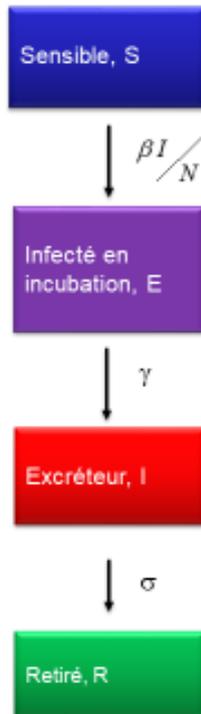


Figure 14 : Modèle SEIR pour estimer le délai d'atteinte d'une prévalence intra-élevage de 20%.

Modèle et compartiments



Equations

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{ds}{dt} = -\frac{\beta I}{N} \cdot S \\ \frac{dE}{dt} = \frac{\beta I}{N} \cdot S - \gamma E \\ \frac{dI}{dt} = \gamma E - \sigma I \\ \frac{dR}{dt} = \sigma I \end{array} \right.$$

Tableau des paramètres utilisés

Paramètre	Signification	Valeur	Source
N	Taille de la population	35	Elicitation d'experts
β	Taux de transmission	0,6 jours ⁻¹	Guinat et al., 2016
1/ γ	Durée de la phase de latence	3 jours	Guinat et al., 2016
1/ σ	Durée de l'excrétion	6 jours	Guinat et al., 2016

ANNEXE 6

Extraits du Règlement (UE) n° 142/2011 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine

Annexe 10 chapitres I et II

EXIGENCES SPÉCIFIQUES RELATIVES AUX PROTÉINES ANIMALES TRANSFORMÉES ET À D'AUTRES PRODUITS DÉRIVÉS

Normes microbiologiques applicables aux produits dérivés

Les normes microbiologiques énoncées ci-après s'appliquent aux produits dérivés.

Les échantillons de produits finaux prélevés pendant l'entreposage ou au terme de celui-ci dans l'usine de transformation doivent satisfaire aux normes suivantes:

Salmonella : absence dans 25 g: n = 5, c = 0, m = 0, M = 0

Enterobacteriaceae : n = 5, c = 2, m = 10, M = 300 dans 1 g

où:

n = le nombre d'échantillons à tester;

m = la valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m;

M = la valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant si le nombre de bactéries dans un ou plusieurs échantillons est supérieur ou égal à M; et

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m.

Exigences spécifiques relatives aux produits sanguins

A. Matières premières

Seul le sang visé à l'article 10, point a) et point b) i), du règlement (CE) n° 1069/2009 peut être utilisé pour la production des produits sanguins.

B. Normes de transformation

Les produits sanguins doivent avoir été soumis:

- à l'une des méthodes de transformation 1 à 5 ou à la méthode de transformation 7 décrites à l'annexe IV, chapitre III; ou
- à une autre méthode garantissant la conformité du produit sanguin avec les normes microbiologiques applicables aux produits dérivés, prévues au chapitre I de la présente annexe.

Annexe 14, chapitre I

EXIGENCES SPÉCIFIQUES APPLICABLES À L'IMPORTATION DANS L'UNION ET AU TRANSIT PAR CELLE-CI DES MATIÈRES DE CATÉGORIE 3 ET PRODUITS DÉRIVÉS DESTINÉS À ÊTRE UTILISÉS DANS LES ALIMENTS DES ANIMAUX

Importations de produits sanguins pour l'alimentation des animaux d'élevage

Les dispositions ci-dessous s'appliquent à l'importation de produits sanguins, y compris le sang et le plasma sanguin séchés par atomisation, qui sont dérivés d'animaux de l'espèce porcine et destinés à l'alimentation de ces derniers.

Ces produits dérivés doivent être:

- soumis à un traitement thermique à une température à cœur d'au moins 80 °C, le sang et le plasma sanguin séchés ne présentant pas plus de 8 % d'humidité avec une activité de l'eau (Aw) inférieure à 0,60;
- entreposés dans un endroit sec à température ambiante pendant au moins 6 semaines.

ANNEXE 7

Extrait du Règlement (UE) n° 142/2011 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine.

Annexe IV, chapitre III

MÉTHODES DE TRANSFORMATION NORMALISÉES

A. Méthode de transformation 1 (stérilisation sous pression)

Réduction

1. Si la taille des particules des sous-produits animaux à transformer excède 50 millimètres, les sous-produits en question doivent être fragmentés à l'aide des équipements appropriés, de manière que la taille des particules soit réduite à 50 millimètres au maximum. Le bon fonctionnement des équipements doit faire l'objet d'une vérification et d'un enregistrement quotidiens. Si les contrôles révèlent la présence de particules excédant 50 millimètres, la transformation doit être arrêtée et des réparations doivent être effectuées avant sa reprise.

Durée, température et pression

2. Les sous-produits animaux dont les particules ont une taille n'excédant pas 50 millimètres doivent être portés à une température à cœur supérieure à 133 °C pendant au moins 20 minutes, sans interruption et à une pression (absolue) d'au moins 3 bars. La pression doit être produite par l'évacuation de tout l'air présent dans la chambre de stérilisation et son remplacement par de la vapeur (« vapeur saturée »); ce traitement thermique peut être appliqué en tant que transformation unique ou en tant que phase de stérilisation antérieure ou postérieure à une autre transformation.
3. La transformation peut être effectuée dans un système par lot ou dans un système en continu.

B. Méthode de transformation 2

Réduction

1. Si la taille des particules des sous-produits animaux à transformer excède 150 millimètres, les sous-produits en question doivent être fragmentés à l'aide des équipements appropriés, de manière que la taille des particules soit réduite à 150 millimètres au maximum. Le bon fonctionnement des équipements doit faire l'objet d'une vérification et d'un enregistrement quotidiens. Si les contrôles révèlent la présence de particules excédant 150 millimètres, la transformation doit être arrêtée et des réparations doivent être effectuées avant sa reprise.

Durée, température et pression

2. Après réduction, les sous-produits animaux doivent être chauffés de manière que leur température à cœur soit maintenue à plus de 100 °C pendant au moins 125 minutes, à plus de 110 °C pendant au moins 120 minutes et à plus de 120 °C pendant au moins 50 minutes.
- Les températures à cœur peuvent être atteintes consécutivement ou par une combinaison concomitante des périodes mentionnées.
3. La transformation doit être effectuée dans un système par lot.

C. Méthode de transformation 3

Réduction

1. Si la taille des particules des sous-produits animaux à transformer excède 30 millimètres, les sous-produits en question doivent être fragmentés à l'aide des équipements appropriés, de manière que la taille des particules soit réduite à 30 millimètres au maximum. Le bon fonctionnement des équipements doit faire l'objet d'une vérification et d'un enregistrement quotidiens. Si les contrôles révèlent la présence de particules excédant 30 millimètres, la transformation doit être arrêtée et des réparations doivent être effectuées avant sa reprise.

Durée, température et pression

2. Après réduction, les sous-produits animaux doivent être chauffés de manière que leur température à cœur soit maintenue à plus de 100 °C pendant au moins 95 minutes, à plus de 110 °C pendant au moins 55 minutes et à plus de 120 °C pendant au moins 13 minutes.

Les températures à cœur peuvent être atteintes consécutivement ou par une combinaison concomitante des périodes mentionnées.

3. La transformation peut être effectuée dans un système par lot ou dans un système en continu.

D. Méthode de transformation 4

Réduction

1. Si la taille des particules des sous-produits animaux à transformer excède 30 millimètres, les sous-produits en question doivent être fragmentés à l'aide des équipements appropriés, de manière que la taille des particules soit réduite à 30 millimètres au maximum. Le bon fonctionnement des équipements doit faire l'objet d'une vérification et d'un enregistrement quotidiens. Si les contrôles révèlent la présence de particules excédant 30 millimètres, la transformation doit être arrêtée et des réparations doivent être effectuées avant sa reprise.

Durée, température et pression

2. Après réduction, les sous-produits animaux doivent être placés dans une cuve à laquelle sont ajoutées des graisses et être chauffés de manière que leur température à cœur soit maintenue à plus de 100 °C pendant au moins 16 minutes, à plus de 110 °C pendant au moins 13 minutes, à plus de 120 °C pendant au moins 8 minutes et à plus de 130 °C pendant au moins 3 minutes.

Les températures à cœur peuvent être atteintes consécutivement ou par une combinaison concomitante des périodes mentionnées.

3. La transformation peut être effectuée dans un système par lot ou dans un système en continu.

E. Méthode de transformation 5

Réduction

1. Si la taille des particules des sous-produits animaux à transformer excède 20 millimètres, les sous-produits en question doivent être fragmentés à l'aide des équipements appropriés, de manière que la taille des particules soit réduite à 20 millimètres au maximum. Le bon fonctionnement des équipements doit faire l'objet d'une vérification et d'un enregistrement quotidiens. Si les contrôles révèlent la présence de particules excédant 20 millimètres, la transformation doit être arrêtée et des réparations doivent être effectuées avant sa reprise.

Durée, température et pression

2. Après réduction, les sous-produits animaux doivent être chauffés jusqu'à la coagulation, puis pressés de manière que l'eau et les graisses soient extraites des matières protéiniques. Celles-ci doivent ensuite être chauffées de manière que leur température à cœur soit maintenue à plus de 80 °C pendant au moins 120 minutes et à plus de 100 °C pendant au moins 60 minutes.

Les températures à cœur peuvent être atteintes consécutivement ou par une combinaison concomitante des périodes mentionnées.

3. La transformation peut être effectuée dans un système par lot ou dans un système en continu.

G. Méthode de transformation 7

1. Toute méthode de transformation autorisée par l'autorité compétente, à qui l'exploitant a démontré que les conditions suivantes étaient remplies:

a) détermination des dangers pertinents dans les matières premières, eu égard à l'origine des matières, et des risques potentiels, eu égard au statut zoosanitaire de l'État membre ou de la région ou zone où la méthode doit être appliquée;

b) capacité de la méthode de transformation de limiter ces dangers à un niveau qui ne présente aucun risque important pour la santé publique et animale;

c) prélèvement quotidien d'échantillons sur le produit final pendant 30 jours de production, dans le respect des normes microbiologiques suivantes:

i) échantillons prélevés directement après le traitement:

absence de *Clostridium perfringens* dans 1 g des produits,

ii) échantillons prélevés pendant l'entreposage ou à l'issue de celui-ci:

Salmonella: absence dans 25 g: $n = 5$, $c = 0$, $m = 0$, $M = 0$

Enterobacteriaceae: $n = 5$, $c = 2$, $m = 10$, $M = 300$ dans 1 g

où:

n = le nombre d'échantillons à tester,

m = la valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m ,

M = la valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant si le nombre de bactéries dans un ou plusieurs échantillons est supérieur ou égal à M , et

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M , les échantillons étant toujours considérés comme acceptables si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m .

2. Les données détaillées concernant les points critiques pour la maîtrise (CCP) permettant d'établir que chaque usine de transformation respecte les normes microbiologiques de manière satisfaisante doivent être enregistrées et conservées de manière que l'exploitant et l'autorité compétente puissent contrôler le fonctionnement de l'usine concernée. Parmi les informations à consigner et à contrôler doivent figurer la taille des particules et, selon le cas, la température critique, la durée absolue du traitement, la pression, le taux d'alimentation en matières premières et le taux de recyclage des graisses.

3. Par dérogation au point 1, l'autorité compétente peut autoriser le recours à des méthodes de transformation qui ont été approuvées avant la mise en application du présent règlement conformément à l'annexe V, chapitre III, du règlement (CE) n°1774/2002.

4. L'autorité compétente doit interdire ou suspendre l'application des méthodes de transformation visées aux points 1 et 3 si elle obtient la preuve que l'une des conditions énoncées au point 1 a) ou 1 b) a changé substantiellement.

5. L'autorité compétente doit communiquer à l'autorité compétente d'un autre État membre qui le demande les informations relatives à une méthode de transformation autorisée qui lui ont été transmises en application des points 1 et 2.

ANNEXE 8

Blázquez *et al.* (2018)

Effect of commercial spray-drying process on inactivation of African swine fever virus inoculated in concentrated porcine plasma

Elena Blázquez^{1,2}, Joan Pujols¹, Joaquim Segalés^{1,3,4}, Carmen Rodríguez², Jesús Ródenas², Isabelle D. Kalmar⁵, Lourens Heres⁶, Javier Polo²

1 IRTA, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA-IRTA), Barcelona, Spain

2 APC EUROPE, Granollers, Barcelona, Spain

3 Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Barcelona, Spain

4 UAB, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

5 VEOS, Zwevezele, Belgium

6 SONAC / DARLING INGREDIENTS, Son, The Netherlands,

African swine fever virus (ASFV) is an enveloped dsDNA virus that can cause high mortality (up to 100%) in all ages of swine. The ASFV does not infect humans and is primarily transmitted by close oral-nasal pig to pig contact, through excretions from infected pigs, or from ingestion of pork or other contaminated products containing the virus (swill, waste, carcasses, etc.). Other transmission pathways are indirect contact through fomites or vector-borne transmission insects. Heating at 56°C/70 minutes or 60°C/20 minutes inactivates the virus (OIE ASF Technical Disease card).

Spray-dried porcine plasma (SDPP) is used globally in feed to enhance weaned pig performance (Torrallardona, 2010) and can effectively reduce morbidity and mortality of growing pigs during outbreaks of diseases like porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), porcine circovirus 2 (PCV-2)-systemic disease and swine influenza (Messier *et al.*, 2007). A research review reported that spray-drying inactivates several swine viruses including PRRS virus, pseudorabies virus, swine vesicular disease virus and porcine epidemic diarrhea virus (Pérez-Bosque *et al.*, 2016). Therefore, the objective of the present work was to study if spray drying conditions of commercial SDPP (80°C throughout its substance) for use in animal feed can inactivate ASFV.

Liquid concentrated porcine plasma (28% solid) was inoculated with ASF virus (Strain Badajoz 1971 – BA71) to a final TCID₅₀ (median tissue culture infective dose) concentration of 10^{5.77} per mL of liquid concentrated plasma. Triplicate 0.5 kg samples of spiked plasma were spray-dried using a laboratory spray dryer (Büchi 290 Mini

Spray Dryer) at an inlet temperature of 200°C and at 80°C outlet temperature. Both liquid and spray dried samples were analyzed for ASFV infectivity in VERO cell monolayers using a titer assay procedure on 25cm² flasks and subjected to 2 consecutive serial passages to new VERO cell culture. After the second passage the cells were analyzed by immune peroxidase monolayer assays (IPMA) against ASFV antigens to determine the amount of virus inactivation. **Titration results determined that spray drying inactivated 4.11 ± 0.20 log₁₀ TCID₅₀/mL of the inoculated ASFV.**

In conclusion, the spray-drying process typical of commercial conditions (80°C throughout its substance) for spray dried porcine blood products was able to inactivate high amounts of ASFV. This result fits with the EU Directive 2002/99/EC, Annex III, that indicates that heat treatment of 80°C throughout substance of meat and dairy proteins inactivates many viruses, including ASFV. In fact, inactivation of 3 to 4 logs of a pathogen is considered an effective safety assurance process for reducing risk of transmission in food or feed products according to guidelines of the WHO (2004).

References:

Messier *et al.* 2007. Proc. AASV:147-150.

Torrallardona, D. 2010. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23(1):131-148.

Pérez-Bosque *et al.* Porcine Health Management (2016) 2:16. DOI 10.1186/s40813-016-0034-WHO (2004) *World Health Organ.* 924, 150–224.

Acknowledgement:

This study was funded by EAPA, European Association of Blood Products Producers.

ANNEXE 9 : SUIVI DU COMPLEMENT D'AVIS

Paragraphe	Identification des ajouts
2. Organisation de l'expertise	<p>Un premier Avis a été adressé à la DGAL le 30 juillet 2019. Suite à un complément d'expertise au moyen d'un modèle stochastique portant sur le risque de diffusion du virus de la PPA par les eaux pluviales, à partir d'un élevage de porcs infectés, ayant accès à un parcours extérieur, le présent Avis complété a été préparé par trois rapporteurs et discuté en CES SABA lors des séances des 10 décembre 2019 et 3 mars 2020. Il a été validé lors de la réunion du CES SABA du 31 mars 2020. Le complément à l'expertise initiale est développé au paragraphe 3.2.1.2.1</p>
3.2.1.2.1. Estimation de la diffusion du virus de la PPA par les eaux de ruissellement	<p>b) Approche stochastique</p> <p>Afin de compléter cette approche déterministe, un travail de modélisation a été réalisé dans un second temps. L'approche stochastique adoptée vise à modéliser la diffusion de la charge virale par une distribution des probabilités de l'excrétion du virus par les porcs ainsi que la dilution par les eaux de ruissellement, en prenant en compte leur variabilité.</p> <p>(...)</p> <p>En conclusion, il ressort de l'approche stochastique pour l'évaluation du risque de diffusion de la PPA à partir d'un élevage de porcs infectés, ayant accès à un parcours extérieur, que :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la probabilité d'avoir des charges virales > 1 TCID50/ml/ha/j dans l'eau ruisselée dépend de la prévalence de porcs infectés et excréteurs, cette probabilité restant négligeable jusqu'à 20% de prévalence. Au-delà, la probabilité devient beaucoup plus importante d'avoir des charges environnementales > 1 TCID50/mL/ha/j (entre 49 et 53%) ; - la probabilité d'avoir des charges virales > 104 TCID50/mL/ha/j dans l'eau ruisselée dépend de la prévalence de porcs infectés et excréteurs, cette probabilité restant nulle jusqu'à 20% de prévalence. Au-delà de 20% de prévalence, la probabilité devient non nulle mais tout en restant très faible d'avoir des charges environnementales > 104 TCID50/mL/ha/j (de l'ordre de 0,08% pour 30% prévalence) ; - les charges virales restent majoritairement très faibles : fréquence de 4 à 5 % pour les charges supérieures à 102 TCID50/mL/ha/j. <p>Ainsi, en fonction de la dose minimale infectieuse retenue :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la probabilité de diffusion du virus PPA via les eaux de ruissellement n'est pas négligeable si la prévalence dans l'élevage émetteur atteint 20% et si la dose minimale infectieuse est extrêmement faible (1 TCID50/mL) ; - la probabilité de diffusion du virus de la PPA via les eaux de ruissellement reste extrêmement faible, y compris au-delà de 20% de prévalence dans l'élevage émetteur, si la dose minimale infectieuse est de l'ordre de 102 à 104 TCID50/mL <p>Les experts soulignent que l'hypothèse d'une dose minimale infectieuse de l'ordre de 1 TCID50/ml, obtenue dans l'estimation bayésienne de Niederwerder et al. (2019), ne semble pas corroborée par les données épidémiologiques. Toutefois, en l'absence de certitude sur cette dose minimale infectieuse, ils recommandent d'adopter des mesures de surveillance en élevage de porcs permettant de détecter le plus rapidement possible les premiers cas, afin de mettre en œuvre les mesures de police sanitaire au plus vite, avant que le niveau de prévalence de 20% ne soit atteint, ce qui risquerait de conduire, notamment par les eaux de ruissellement, à une diffusion du virus hors de l'élevage.</p> <p>Si cette surveillance n'était pas suffisante, la probabilité de diffusion du virus de la PPA via les eaux de ruissellement pourrait augmenter. En cas d'occurrence, cette diffusion hors de l'élevage se produirait sur une courte distance (moins d'un kilomètre). Au-delà, le phénomène de dilution rendrait cette probabilité de diffusion négligeable, sauf dans certains cas particuliers étudiés ci-dessous (cf. schémas infra).</p>

3.2.1.2.4. Recommandations	Le Gecu souligne l'importance : - (...) - de la détection précoce et de la déclaration rapide de l'infection en élevage, en lien avec la sensibilisation des acteurs, afin notamment d'empêcher d'atteindre un niveau de prévalence intra-élevage qui augmenterait le risque de diffusion hors de l'élevage par les eaux de ruissellement (20% de prévalence selon le modèle stochastique utilisé dans le présent Avis) ; - (...)
4. Conclusions et recommandations de l'Agence	(...) Dans cette version complétée de l'avis, l'analyse qualitative sur le risque de dissémination environnementale par les eaux de ruissellement a été approfondie par une modélisation quantitative sur base de modèles stochastiques, ce qui a permis de mieux cerner la « fraction pivot » autour de 20%, au-delà de laquelle un élevage de petite taille (inf. à 40 porcs) en parcours de plein air deviendrait émetteur avec une probabilité qui n'est plus négligeable. (...) La modélisation faite dans le cadre du complément de cet avis a illustré l'importance de cette détection précoce, s'agissant du risque de contamination vers l'environnement par ruissellement et montré qu'il y avait une fenêtre temporelle pour que cette action soit efficace.