

# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>1</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>I. Les mycobactéries .....</b>	<b>7</b>
1. Classification .....	7
2. Le complexe <i>M. tuberculosis</i> .....	9
3. Pathogénie .....	12
4. Diagnostic clinique et nécropsique .....	13
5. Diagnostic de laboratoire .....	14
<b>II. Les lésions.....</b>	<b>20</b>
1. Description des lésions .....	20
2. Localisation des lésions .....	22
3. Variations en fonction des espèces.....	23
<b>III. Modalités de transmission de <i>M. bovis</i>.....</b>	<b>25</b>
1. Hôtes et réservoirs dans la faune sauvage .....	25
2. Les voies d'excrétion et matières virulentes .....	26
3. Les voies de contamination et doses infectantes respectives.....	32
4. Les facteurs favorisants.....	34
<b>IV. Risques pour la France .....</b>	<b>38</b>
1. Les différents rôles épidémiologiques des espèces .....	38
2. Le sanglier ( <i>Sus scrofa</i> ) .....	40
3. Le cerf.....	42
4. Le blaireau ( <i>Meles meles</i> ).....	43
5. Le chevreuil ( <i>Capreolus capreolus</i> ).....	44
6. La situation en France .....	44
<b>I. Rappel de la situation épidémiologique en forêt de Brotonne (saisons de chasse 2001-2002 à 2011-2012).....</b>	<b>55</b>
1. Localisation de la forêt de Brotonne - Mauny.....	55
2. Evolution de la situation épidémiologique, des mesures de surveillance et de lutte entre 2001 et 2006 .....	57
3. Evolution de la situation épidémiologique après 2006.....	59

<b>II. Objectifs et partenaires .....</b>	<b>60</b>
1. Objectif des programmes 2012-2013 et 2013-2014.....	60
2. Partenaires.....	60
<b>III. Protocole.....</b>	<b>61</b>
1. Territoire d'étude.....	61
2. Période d'étude .....	61
3. Espèces étudiées, échantillonnage, protocole de prélèvement .....	61
4. Déroulement des inspections / prélèvements sur le terrain.....	63
5. Matériel.....	65
6. Protocole de laboratoire .....	66
<b>IV. Résultats.....</b>	<b>67</b>
1. Bilan général des inspections réalisées .....	67
2. Chez le cerf .....	69
3. Chez le sanglier .....	71
4. Chez le chevreuil .....	84
5. Chez le renard .....	87
6. Chez le blaireau .....	87
7. Bilan des résultats depuis 2001.....	88
<b>V. Discussion.....</b>	<b>89</b>
1. Les prélèvements réalisés .....	89
2. Les méthodes d'examen.....	90
3. Les résultats.....	91
4. Perspectives.....	95
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>97</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>99</b>

# Introduction

La tuberculose est une zoonose infectieuse majeure, cosmopolite, qui affecte de nombreuses espèces aussi bien domestiques que sauvages. Il s'agit d'une maladie infectieuse due à des bactéries appartenant au genre *Mycobacterium* : *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. africanum*. La bactérie responsable de la tuberculose peut se transmettre selon différents modes de contamination, aussi bien direct qu'indirect, car elle survit longtemps dans le milieu extérieur. Les matières virulentes sont principalement les aérosols, le lait et plus rarement les fèces et l'urine. Les bovins s'infectent principalement par *M. bovis* et beaucoup plus rarement, *M. tuberculosis*.

La tuberculose a une importance zoonotique majeure. En effet, il s'agit de la deuxième maladie infectieuse la plus importante au monde qui tue chaque année entre un et deux millions de personnes. La majorité des cas sont dus à *M. tuberculosis* mais *M. bovis* peut représenter, dans les pays où la maladie est encore très présente chez les bovins, plus de 10 % des cas. Le traitement antituberculeux est particulièrement long et coûteux. En France, grâce à la pasteurisation du lait qui annule les risques de transmission à l'homme, l'enjeu de *M. bovis* est aujourd'hui principalement économique.

En France, la tuberculose bovine est classée dans les maladies réglementées de première catégorie (anciennement MRC) pour l'ensemble des mammifères. La France est officiellement indemne de tuberculose bovine depuis 2001, ce qui signifie que la prévalence annuelle chez les bovins est inférieure à 0,1 %. Après avoir progressé régulièrement dans l'éradication de cette maladie chez les bovins, initié il y a plus de 50 ans, la France est encore confrontée à des cas sporadiques au sein des troupeaux domestiques et on assiste également à une recrudescence des cas dans certains départements tels que la Côte-d'Or, Dordogne, les Pyrénées-Atlantiques, les Landes...

Des cas d'infection par *M. bovis* ont également été récemment découverts dans la faune sauvage. Ceci est particulièrement préoccupant car la constitution d'un réservoir « sauvage » de tuberculose ferait peser une menace permanente sur les cheptels bovins indemnes. Il s'agit donc d'un sujet très sérieux, d'autant plus que la prévalence de la tuberculose en France augmente depuis quelques années et s'approche dangereusement de la barre des 0,1 % ce qui risque à terme de faire perdre au pays le statut officiellement indemne.

Dans plusieurs pays du monde, il a été identifié des réservoirs sauvages d'infection à *M. bovis* mettant en péril l'éradication chez les bovins. Les espèces concernées sont le Possum (*Trichosurus vulpecula*) en Nouvelle-Zélande, le blaireau (*Meles meles*) en Grande-Bretagne, le Cerf (*Cervus elaphus*) en Espagne et le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) aux Etats-Unis et le sanglier (*Sus scrofa*) en Espagne. Un enjeu majeur est donc de surveiller l'infection et de lutter contre la constitution de réservoirs de tuberculose dans la faune sauvage.

En France, c'est en forêt de Brotonne (Seine-Maritime) que le premier cas d'infection à *M. bovis* a été détecté en 2001 sur des cervidés en liberté (Hars *et al.*, 2004). De nombreuses études ont ensuite été conduites afin de déterminer comment s'est constitué ce foyer et d'éviter que d'autres foyers se créent. Depuis 2001, d'importantes mesures de lutte ont été

prises, un bilan de ces treize années de surveillance et des perspectives à venir a été réalisé ici. La première partie traite de l'épidémiologie de *M. bovis* à travers le monde, à savoir ses caractères cultureux et ses capacités de survie dans le milieu extérieur, les lésions observées lors d'infection par *M. bovis* et enfin les différents réservoirs sauvages à *M. bovis* en France et ailleurs dans le monde. La deuxième partie aborde le cas de la forêt de Brotonne en analysant l'évolution de la situation, 12 ans après la découverte du premier cas français d'infection à *M. bovis* au sein de la faune sauvage.

# *Etude bibliographique*



# I. Les mycobactéries

Le bacille tuberculeux (*M. tuberculosis*) a été découvert en 1882 par Robert Koch à partir de lésions humaines, ce qui lui a valu d'être baptisé « bacille de Koch ». Koch pensait qu'il n'existait qu'un seul bacille responsable de la tuberculose chez l'homme, les bovins, les singes, le cobaye, le lapin et la poule. Ceci a été démenti à posteriori.

La famille des mycobactéries dont fait partie le bacille tuberculeux appartient à l'ordre des *Actinomycétales*, à la famille des *Mycobacteriaceae* et au genre *Mycobacterium*. A noter que le genre *Mycobacterium* est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae*. Le genre *Mycobacterium* est composé de bacilles droits ou légèrement incurvés, de 0,2 à 0,6 µm, immobiles et non sporulés. La paroi des mycobactéries possède la particularité d'être riche en acides mycoliques. Cette particularité leur confère la capacité de rétention de certains colorants malgré l'action combinée d'acide dilué et d'alcool. On qualifie ainsi ces bactéries de « bacilles acido-alcool résistants » (BAAR) (Kervern, 1994). Ce caractère acido-alcool résistant permet de mettre en évidence ces bactéries par la coloration de Ziehl-Neelsen (ZN). En plus de cette propriété tinctoriale, la nature de la paroi des mycobactéries leur confère également une grande résistance aux antiseptiques, à certains antibiotiques et aux macrophages.

## 1. Classification

Le genre *Mycobacterium* comporte plus de 60 espèces pouvant être différenciées selon différents critères :

- le pouvoir pathogène,
- la vitesse de croissance,
- le taux de G-C (ou coefficient de Chargaff) qui est le pourcentage de liaisons G-C dans le génome de la bactérie ;
- d'autres critères culturels, biochimiques ou génétiques.

Dans cette étude nous utiliserons une classification fondée sur le pouvoir pathogène. On distingue 3 groupes différents, présentés dans le tableau 1 (Cours de Maladies Contagieuses).

**Tableau 1.** Principales mycobactéries actuellement reconnues (inspiré du cours de maladies contagieuses 2013) (Benet et Praud, 2013)

		Nom	Pouvoir pathogène pour les animaux	Pouvoir pathogène pour l'homme	
Mycobactérie pathogènes	Complexe <i>tuberculosis</i>	<i>M. tuberculosis</i>		++ tuberculose humaine	
		<i>M. africanum</i>	Singe +	+ tuberculose humaine	
		<i>M. bovis</i>	+ tuberculose bovine	+	
		<i>M. caprae</i>	+Caprins, bovins	+	
		<i>M. microti</i>	+tuberculose du campagnol	+	
		<i>M. canetti</i>		+/-	
	Mycobactéries opportunistes	MOTT ou atypiques	<i>M. avium intracellulare</i>	+ tuberculose aviaire	+/-
			<i>M. paratuberculosis</i>	+ paratuberculose	
			<i>M. leprae</i>	0	lèpre humaine
			<i>M. lepraemurium</i>	+ lèpre murine	0
			<i>M. farcinogenes</i>	+ (farci du bœuf en Afrique)	+
<i>M. chelonae</i>			+/-	+/-	
<i>M. fortuitum</i>			+	+	
<i>M. goodnae</i>			-	+/-	
<i>M. intracellulare</i>			+	+	
<i>M. kansasii</i>			+	+	
Mycobactéries saprophytes	MOTT ou atypiques	<i>M. marinum</i>	+	+/-	
		<i>M. ulcerans</i>	+	+	
		<i>M. xenopi</i>	+	+	
		<i>M. flavescens</i>	-	-	
		<i>M. phlei</i>	-	-	
		<i>M. smegmatis</i>	+/-	+/-	
		<i>M. vaccae</i>	-	-	
		<i>M. terrae</i>	-	-	
		<i>M. gastri</i>	-	-	

+ : espèce sensible, - espèce non sensible, +/- sensibilité intermédiaire

(Source :)

- **les mycobactéries pathogènes** : elles ont une croissance lente sur milieu enrichi et un pouvoir pathogène dont l'évolution est chronique. Elles sont à l'origine de lésions et ont un pouvoir allergène utilisé à des fins diagnostiques. Dans cette catégorie on retrouve l'ensemble des mycobactéries de la tuberculose dénommé « *M. tuberculosis*

*Complex* » (MTC) ainsi qu'un deuxième groupe appelé « *Mycobacterium avium intraCellulare* » (MAC) regroupant les bactéries capables de provoquer une tuberculose chez les oiseaux et d'autres espèces. Le terme bacille tuberculeux englobe le groupe des MTC et des MAC. Avec les critères présentés ci dessus, *M. avium* est inclus dans les mycobactéries pathogènes. Cependant elle n'est pathogène pour l'homme que dans certains cas et sa présence dans ce groupe ou dans le groupe des mycobactéries opportunistes est controversé ;

- **les mycobactéries opportunistes** : elles peuvent provoquer dans certaines conditions des maladies peu ou pas contagieuses habituellement bénignes chez l'homme. Elles sont souvent rebelles aux traitements antituberculeux et également responsables de résultats faussement positifs dans les procédures de dépistages par Intra-Dermo-Reaction (IDR) de la tuberculose ;
- **Les mycobactéries saprophytes** : elles sont très nombreuses dans la nature, on les retrouve dans l'eau, le sol, l'herbe, le tube digestif, la peau, les muqueuses, le lait... Elles sont susceptibles de souiller et de contaminer certaines plaies ou prélèvements. Il est important de penser à ces mycobactéries avant l'interprétation de certains résultats au laboratoire.

Ces deux dernières catégories sont qualifiées « d'atypiques » ou « non tuberculeuses » (Rastogi *et al.*, 2001). Une autre classification, d'ordre pratique consiste à séparer les mycobactéries pathogènes en mycobactéries tuberculeuses (complexe *M. tuberculosis*) et en « *Mycobacteria Other than the M. tuberculosis complex* » (MOTT) (Rastogi *et al.*, 2001).

Remarque : Toute mycobactérie doit faire l'objet d'une détermination précise de l'espèce afin d'évaluer son éventuel rôle pathogène dans chaque cas rencontré. En cas d'isolement de mycobactéries opportunistes, il n'est pas possible de conclure directement sur leur responsabilité dans l'infection.

## 2. Le complexe *M. tuberculosis*

Le complexe *M. tuberculosis* regroupe six espèces de bacilles tuberculeux dont deux sont des agents de zoonose (*M. bovis* responsable de la tuberculose bovine et *M. tuberculosis* responsable de la tuberculose humaine)

### 2.1 Caractères cultureux

Les mycobactéries tuberculeuses sont aérobies strictes ou micro-aérophiles. La culture est lente et difficile, elle nécessite un milieu enrichi. La croissance optimale a lieu à 35-37°C avec un pH compris entre 6,7 et 6,9 sur des milieux enrichis. Toutefois même sur ces milieux, la croissance reste lente, elle est de l'ordre de 10 à 30 jours pour *M. tuberculosis* et *M. avium* et de 1 à 2 mois pour *M. bovis*.

## **2.2 Résistance chimique**

La composition de la paroi des mycobactéries leur confère des capacités de résistance importante. Comparées aux autres bactéries elles sont particulièrement résistantes aux antiseptiques et aux désinfectants chimiques usuels tels que les acides ou les bases en solution. Elles restent toutefois sensibles à l'iode, à l'alcool (des bacilles tuberculeux sont inactivés après 5 minutes dans l'alcool à 90°), aux hypochlorites, au formol et aux dérivés phénoliques.

Les mycobactéries sont également résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques (pénicillines, tétracyclines, chloramphénicol). Le bacille tuberculeux est néanmoins sensible à certains antibiotiques comme l'isoniazide, la rifampicine, l'ethambutol, la streptomycine, l'ethionamide et d'autres produits chimiques divers. Le traitement antituberculeux reste malgré tout difficile. Afin de préserver la sensibilité des mycobactéries à ces médicaments, en France, le traitement est réservé aux humains et plusieurs antibiotiques sont systématiquement associés.

## **2.3 Résistance dans l'environnement**

Dans cette partie nous nous intéresserons à la résistance de *M. bovis* dans différents supports du milieu extérieur. Trois paramètres environnementaux majeurs influencent la survie de *M. bovis* dans le milieu extérieur, il s'agit de l'humidité, de la température et de la lumière. Quelque soit la nature du milieu dans lequel repose *M. bovis*, une augmentation de la température, de l'exposition au soleil et/ou une diminution de l'humidité diminuent la durée de survie de *M. bovis* dans ce milieu.

### **2.3.1 Survie dans l'eau**

Dans l'eau courante, il a été démontré que *M. bovis* peut survivre jusqu'à 400 jours, de même la survie de *M. bovis* dans une solution physiologique saline est de l'ordre de 300-400 jours (Phillips *et al.*, 2003).

### **2.3.2 Survie dans les pâtures et les forêts**

Il a été prouvé que *M. bovis* peut survivre dans les pâtures, mais la durée de survie est étroitement liée aux conditions météorologiques (Phillips *et al.*, 2003).

L'exposition au soleil joue un rôle important, les mycobactéries sont détruites en moins de 12h en cas d'exposition directe au soleil. Par contre elles peuvent survivre jusqu'à 74 jours à l'abri du soleil, et probablement encore plus longtemps si elles sont contenues dans des fèces.

Dans les pâtures les mycobactéries ne sont en général pas exposées directement aux rayons du soleil mais plutôt exposées à la lumière indirecte ou diffuse, ce qui met plus de temps à détruire les mycobactéries, la survie est alors de l'ordre de 7-28 jours (Jackson *et al.*, 1995). Cette valeur diminue si la température augmente.

En forêt aucune durée de survie n'est décrite pour *M. bovis*, cependant on peut supposer que la durée de survie y est plus grande étant donné l'ombre conférée par la végétation.

Les tanières et les terriers constituent également un lieu plus à l'abri du soleil que la forêt, la survie des mycobactéries pourrait donc y être d'autant plus grande.

Il existe une différence significative de résistance de *M. bovis* entre ces trois habitats : les pâtures où la résistance est la plus faible, les forêts où elle est intermédiaire et enfin les tanières où elle est élevée (Jackson *et al.*, 1995).

La durée de survie de *M. bovis* dans différents supports (eau, sol, maïs et foin) entreposés dans une pâture du Michigan a permis d'étudier l'influence du support et de la saison sur la résistance de *M. bovis* dans le milieu extérieur. L'étude montre que la décroissance de *M. bovis* dans le milieu extérieur est bi-phasique. Quelles que soient les conditions climatiques, le nombre de bacilles viables décroît rapidement dans les 7 à 14 premiers jours, les quelques bacilles restants sont susceptibles de survivre pendant 4 à 12 semaines. L'étude confirme que la durée de survie de *M. Bovis* diminue lorsque la température augmente et / ou que l'humidité diminue. La température et l'humidité sont les éléments principaux intervenant dans la survie de *M. Bovis*, la survie est en effet plus longue lorsque la température est basse et le taux d'humidité important (Fine *et al.*, 2011).

Concernant les quatre substrats étudiés, il n'existe pas de différences significatives de survie quelque soit la saison. Toutefois, en été, lorsque la température est la plus élevée et le taux d'humidité le plus faible, la survie est plus longue dans l'eau que dans les trois autres supports. Ainsi, même en présence de conditions climatiques défavorables à la survie de *M. bovis*, une persistance est possible dans l'eau.

En hiver, la survie de *M. bovis* a pu atteindre 88 jours dans un sol humide et froid suggérant que le sol a un effet protecteur (Fine *et al.*, 2011).

### 2.3.3 Survie dans les fèces

Plusieurs expériences ont également été conduites afin de déterminer la résistance de *M. bovis* dans les fèces. Comme précédemment, la température, l'humidité et l'exposition à la lumière sont les trois principaux paramètres influant la résistance de *M. bovis*.

En 1975, Wray a démontré que la durée de survie dans les fèces de *M. bovis* passait de 150-332 jours à 12-24°C à 18-31 jours lorsqu'elles sont exposées au soleil à 24-34°C (Wray, 1975).

D'autres études sur le même thème ont été réalisées, l'une d'entre elles montre que *M. bovis* peut résister 2 mois en été et 5 mois lors d'un hiver humide. Philips *et al* quant à eux considèrent qu'au bout de 7 mois de stockage, les fèces ne constituent plus un risque (Phillips *et al.*, 2003).

### 2.3.4 Survie dans les autres matières animales

La durée de survie de *M. bovis* dans les carcasses de possums infectées dépend de la température, de la vitesse de putréfaction et de décomposition, et du degré de protection végétale (Livingstone *et al.*, 1979).

Dans son étude, Livingstone a conclu que *M. bovis* peut être isolé tant que les lésions de tuberculose sont visibles et reconnaissables sur la carcasse (Livingstone *et al.*, 1979).

Pour ce qui est des valeurs de résistance, *M. bovis* a été isolé sur la carcasse desséchée d'un animal mort depuis plus d'un mois (Morris *et al.*, 1994). Sur des carcasses de blaireaux, *M. bovis* a été isolé au bout de 2 semaines sur une carcasse laissée dans une pâture et jusqu'à six semaines dans une carcasse enterrée (Little *et al.*, 1982).

Les carcasses d'animaux infectés semblent donc susceptibles d'héberger *M. bovis* pendant quelques semaines après la mort de l'animal.

Le tableau 2 résume les durées de survies de *M. bovis* dans différents milieux.

**Tableau 2.** Résumé des durées de survies de *M. bovis* dans divers milieux (Wray, 1975 ; Little *et al.*, 1982 ; Jackson *et al.*, 1995 ; Phillips *et al.*, 2003).

Milieu	Durée de survie
Eau	300-400 j
Pâture	7-28 j
Fèces	18-332 j
Carcasses	14-42 j

## 3. Pathogénie

L'infection par *M. bovis* peut se faire par voie respiratoire, digestive ou percutanée. La pathogénie de la tuberculose est composée de deux étapes. Durant l'étape primaire, après pénétration dans l'organisme de *M. bovis*, un afflux de cellules immunitaires a rapidement lieu au niveau du point d'entrée. Les mycobactéries sont rapidement phagocytées par les macrophages des bronchioles terminales, de la *lamina propria* du tractus gastro-intestinal, ou du derme sous cutané. Une partie des bactéries phagocytées est détruite, cependant une majorité survit. Cette résistance après phagocytose est une caractéristique des mycobactéries tuberculeuses. La composition de leur membrane cellulaire, structure tripartite complexe riches en lipides (30 à 40 % du poids total) dont notamment les acides mycoliques joue un rôle important dans la résistance des mycobactéries au sein des macrophages. Par exemple *M. avium*, apparaît encapsulée après phagocytose et est capable d'inhiber la fusion phagosome-lysosome. Par contre *M. aurum*, souche non pathogène, n'apparaît pas encapsulée après phagocytose, n'a pas la capacité d'inhiber la fusion phagosome-lysosome et est rapidement détruite (Rastogi *et al.*, 2001).

Les mycobactéries ayant survécu à la phagocytose se multiplient alors à l'intérieur des macrophages. En l'espace de 8-15 jours la multiplication locale induit une réaction inflammatoire créant une lésion locale appelée chancre d'inoculation. Via les macrophages,

les mycobactéries se propagent alors par voie lymphatique au nœud lymphatique locorégional créant ainsi une deuxième lésion tuberculeuse appelée : adénopathie satellite ou bien la propagation lieu par voie générale permettant la colonisation d'autres organes par les mycobactéries (de Lisle *et al.*, 1999). L'association de ces deux lésions : chancre d'inoculation et adénopathie satellite caractérise l'étape primaire de la tuberculose et témoigne de la voie d'entrée des mycobactéries.

Suite à cette étape primaire, 3 issues différentes sont possibles : la guérison avec une cicatrisation des lésions, une stabilisation avec un potentiel « réveil » après un délai plus ou moins long dont les causes sont diverses, ou la généralisation précoce avec une propagation de proche en proche ou par embolisation des mycobactéries. La multiplication massive des bactéries permet une diffusion au sein de l'organisme de proche en proche mais aussi par voie lymphatique et sanguine à l'origine de cas de tuberculose généralisée. La propagation des mycobactéries peut aboutir à des lésions ouvertes sur des voies de drainage naturelles comme les bronches ou le tube digestif.

## **4. Diagnostic clinique et nécropsique**

### **4.1 Diagnostic clinique**

La tuberculose bovine est une maladie chronique évoluant pendant des mois voire des années à bas bruit. Le développement de la maladie est le plus souvent asymptomatique. Seule une faible proportion d'animaux développe des symptômes qui peuvent être très diversifiés étant donné la capacité de *M. bovis* à coloniser une multitude d'organes différents. Ces symptômes sont le plus souvent frustrés et peu caractéristiques de la tuberculose, ne reflétant la plupart du temps qu'un mauvais état général marqué par un amaigrissement des animaux atteints (Machackova, 2003).

L'examen clinique à lui seul ne permet pas de diagnostiquer un cas de tuberculose chez un animal. Chez les animaux sauvages, il est d'autant plus difficile, voire même impossible de réaliser un examen clinique.

Les cervidés sont des animaux très sensibles et réceptifs à *M. Bovis*, les sangliers sont également très réceptifs et plus ou moins sensibles selon les régions (Duvauchelle, 2007; Hars *et al.*, 2013). Chez les sangliers et cervidés, quelques indices observables à distance peuvent laisser penser à une infection par *M. bovis*. Les animaux sont chétifs et des troubles respiratoires tels que de la toux ou des râles respiratoires chez les cervidés sont parfois visibles, mais ces observations restent très rares. Des animaux morts ont été retrouvés dans des régions où l'infection par *M. bovis* est présente et plusieurs études confirment que des cas de tuberculose peuvent être mortels, en particulier chez les jeunes animaux atteints de tuberculose généralisée (Segalés *et al.*, 2005 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007).

En raison des difficultés de réalisation d'un examen clinique sur les animaux de la faune sauvage ainsi que de la faible expression de la maladie, la symptomatologie et la découverte d'animaux morts ne permettent pas de diagnostiquer avec certitude la tuberculose. Des examens supplémentaires réalisés sur le terrain ou en laboratoire sont nécessaires afin de pouvoir confirmer ou infirmer la présence de *M. Bovis* chez un individu.

## 4.2 Diagnostic nécropsique

L'examen nécropsique permet de mettre en évidence des lésions macroscopiques caractéristiques de tuberculose. Cependant, la présence de lésions macroscopiques n'est pas toujours bien corrélée à l'isolement de *M. bovis* selon l'espèce étudiée. En effet, *M. bovis* a été isolé chez tous les cervidés prélevés en forêt de Brotonne présentant des lésions macroscopiques tandis que chez le sanglier la corrélation entre la présence de lésions et l'isolement de *M. bovis* est nettement moins bonne (Duvauchelle, 2007 ; Zanella *et al.*, 2008). De plus une part non négligeable des cas où *M. bovis* est isolé ne présente pas de lésions macroscopiquement visibles (Duvauchelle, 2007 ; Zanella *et al.*, 2008).

L'examen nécropsique est une étape essentielle dans le diagnostic de la tuberculose, au cours de cette étape, des prélèvements divers peuvent être réalisés en vue d'examens de laboratoires. Cette étape permet également d'émettre un premier avis sur le statut sanitaire de l'animal vis à vis de la tuberculose. Toutefois, l'examen nécropsique seul ne permet pas de statuer sur la présence ou non de *M. bovis* et des examens de laboratoires, détaillés ci dessous sont nécessaires au diagnostic.

## 5. Diagnostic de laboratoire

### 5.1 Culture bactérienne

C'est la méthode de référence permettant de confirmer la présence de *M. bovis* chez un individu. L'isolement de *M. bovis* à lui seul permet d'établir le diagnostic de tuberculose. Ces analyses sont réalisées dans les laboratoires départementaux agréés pour ce type d'analyses. La mise en culture est réalisée à partir de différents prélèvements (nœuds lymphatiques, organes divers, lésions suspectes) qui sont broyés avant d'être ensemencés sur différents milieux. La culture de *M. bovis* étant particulièrement longue et difficile, l'utilisation de milieux sélectifs est la règle, tels que le milieu de Løwenstein-Jensen (LJ) ou de Coletsos qui est un dérivé du milieu de LJ. Au LAVD76, laboratoire où sont réalisées les analyses des prélèvements effectués en forêt de Brotonne, les prélèvements sont mis en culture sur ces deux milieux.

Dans le cas où le prélèvement est contaminé par d'autres bactéries, une étape de décontamination est nécessaire avant la mise en culture. Le principe de la décontamination consiste à utiliser des agents chimiques auxquels les mycobactéries sont relativement résistantes mais pas la flore bactérienne banale. Depuis le début du 20ème siècle, de multiples traitements ont été essayés avec plus ou moins de succès, témoignant de la difficulté de parvenir à trouver un traitement permettant à la fois d'épargner les bacilles alcool-résistants et d'éliminer le reste de la flore bactérienne. Actuellement, il existe différentes méthodes de décontamination utilisées selon la nature du prélèvement.

Après décontamination, les prélèvements sont alors mis en culture selon le même procédé que pour les prélèvements non contaminés, à savoir sur un milieu de LJ le plus souvent. Une partie des cultures est maintenue dans une étuve à 37°C, l'autre à 30°C. Les cultures sont

régulièrement contrôlées, une première fois au bout de deux semaines puis toutes les semaines. L'incubation peut durer jusqu'à 3 mois. Au bout de 3 mois les cultures sont examinées pour vérifier si les souches ayant poussé sont des mycobactéries ou non. Cette vérification est réalisée à l'aide d'un frottis et d'une coloration de Ziehl-Neelsen permettant de différencier les mycobactéries d'autres bactéries (Thorel, 2003).

En cas de confirmation de la présence de mycobactéries par la coloration de ZN, les cultures sont envoyées à l'Anses de Maisons-Alfort, laboratoire français de référence pour la tuberculose où les mycobactéries sont typées selon différentes techniques moléculaires.

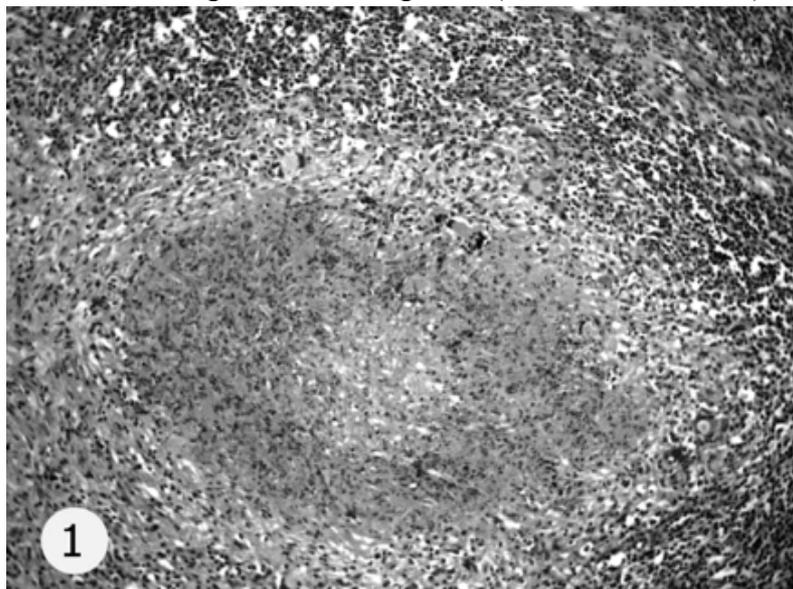
Cette méthode diagnostique requiert toutefois que les mycobactéries soient vivantes au moment de la mise en culture, sinon la culture se révélera négative. Malgré cet inconvénient ainsi qu'une sensibilité moyenne, cette technique, peu coûteuse et très spécifique reste très largement utilisée.

## 5.2 Analyse histologique

A l'histologie, la lésion caractéristique de tuberculose correspond à une image en « cocarde » : le follicule tuberculeux. Cette lésion est composée au centre d'un centre nécrotique homogène caséo-calcaire. Le centre nécrotique est entouré d'une première couronne de cellule composée d'histiocytes et de macrophages, puis d'une seconde couronne lymphocytaire.

Malgré le fait que ces lésions puissent être causées par d'autres mycobactéries la spécificité est tout à fait correcte (92,3 %), et la sensibilité est très satisfaisante (93,4 %). De plus le résultat est rapide à obtenir (une semaine environ) (Varello *et al.*, 2008). La figure 1 représente une lésion histologique caractéristique d'infection par *M. bovis* : un granulome tuberculeux avec présence de caséum, de cellules épithélioïdes et des cellules géantes de Langhan's.

**Figure 1.** Granulome tuberculeux, au centre : caseum, en périphérie : cellules épithélioïdes et des cellules géantes de Langhan's (Varello *et al.*, 2008)



### 5.3 Amplification génique

L'amplification génique ou technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) a été découverte en 1983. Cette technique utilise une des propriétés des ADN polymérases : ne pouvoir synthétiser le brin complémentaire d'une séquence qu'à partir d'une amorce. La PCR sert à copier, un très grand nombre de fois, un segment d'ADN choisi à l'avance. Pour réaliser une PCR, 2 amorces sont nécessaires (elles doivent encadrer le segment d'ADN à copier).

Après amplification de la souche à analyser, elle est hybridée avec différentes souches telles que *M. bovis* et *M. avium* principalement, mais selon la sonde utilisée il est également possible d'hybrider la souche avec d'autres mycobactéries opportunistes ou saprophytes. Ainsi, il est possible de savoir quelle souche de mycobactérie est présente dans l'échantillon.

Différentes amorces peuvent être utilisées dans la mise en évidence des mycobactéries. Du choix des amorces dépend la spécificité de la PCR, en effet selon que la séquence nucléotidique des amorces est conservée chez l'ensemble des mycobactéries ou bien chez une espèce en particulier, la spécificité n'est pas la même.

Le gène codant pour l'antigène 65 Kd est présent chez l'ensemble des mycobactéries, un test PCR positif utilisant une amorce de ce gène permet de mettre en évidence la présence de mycobactéries dans l'échantillon analysé mais pas de savoir de quelle espèce de mycobactéries il s'agit.

D'autres amorces plus spécifiques ont également été identifiées, le marqueur IS6110 est spécifique des bacilles de la tuberculose (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. africanum*), enfin les marqueurs JP21 et JP22 sont spécifiques de *M. bovis* et permettent donc de faire la distinction avec les autres mycobactéries (Rodriguez *et al.*, 1995).

L'ADN est une molécule stable, résistante même lorsqu'elle est en contact direct avec le milieu extérieur dont la durée de survie est supérieure à celle de la cellule qui l'héberge. Cette résistance de l'ADN présente à la fois un avantage et un inconvénient (Nieminen *et al.*, 2006).

La PCR permet en effet de mettre en évidence des mycobactéries mortes ou qui ne sont pas aptes à la mise en culture permettant ainsi de révéler la présence de mycobactéries que la culture n'aurait pas permis de déceler. Ainsi, lors d'études sur la présence et la survie de *M. bovis* dans le milieu extérieur, la technique de PCR ne permet pas de différencier un bacille viable d'une souche morte, le résultat étant positif dans les deux cas.

La spécificité varie selon les études et le choix des amorces, elle est de l'ordre de 92 % selon Thorel et oscille entre 95,2 et 98,1 % selon Hénault (Hénault *et al.*, 2006). Pour la sensibilité, elle est comprise entre 66 et 85 % toujours selon Thorel (Thorel, 2003), et entre 74 et 81,5 % selon Hénault (Hénault *et al.*, 2006). Il est possible d'associer plusieurs amorces différentes lors de l'amplification, ceci augmente la sensibilité jusqu'à 88,9 % mais cela diminue la spécificité (97,2 %). Le seuil de détection de *M. bovis* avec les amorces JP21 et JP22 est de l'ordre de deux mycobactéries (Rodriguez *et al.*, 1995).

Les résultats entre culture et PCR ne coïncident pas toujours, ceci peut avoir différentes origines. Dans certains cas la culture peut se révéler positive alors que la PCR non, ceci peut s'expliquer par un prélèvement pauci-bacillaire ou bien la présence d'inhibiteurs de la polymérase interférant avec la PCR.

La culture peut également se révéler négative alors que la PCR est par contre positive. Ceci peut avoir différentes causes possibles :

- une hétérogénéité de répartition des mycobactéries dans le prélèvement,
- une décontamination trop efficace ayant tué les bacilles,
- une détection de génomes bactériens dans les prélèvements précoces au cours de réactivation de tuberculose ancienne,
- un manque de spécificité de la PCR *cf. infra*.

Il est possible d'associer la culture bactériologique à la PCR en réalisant une amplification génique à partir de l'échantillon mis en culture avec l'apparition d'éventuelles colonies. Cette association permet d'avoir un diagnostic au bout de 12 à 25 jours au lieu des 42-91 jours initiaux (pour une culture sur milieu de Middlebrook) (Rodriguez *et al.*, 1995). Outre le gain de temps, cela permet de mettre en évidence les mycobactéries viables mais également celles qui auraient été incapables de former des colonies.

Enfin, avec cette méthode, l'échantillon amplifié présente peu d'éléments tels que l'ADN d'autres bactéries ou d'inhibiteurs de la polymérase pouvant interférer avec la PCR à l'origine de faux négatifs (Rosario *et al.*, 2012).

La PCR est donc une analyse de choix, rapide, dotée d'une bonne sensibilité mais d'une spécificité plus ou moins bonne car elle ne permet pas de distinguer *M. microti* de *M. bovis*. *M. microti* est une mycobactérie responsable de la tuberculose du campagnol, elle est génétiquement très proche de *M. bovis* et aucune amorce PCR ne permet de faire la distinction entre les deux mycobactéries. *M. microti* infecte les petits rongeurs et a été retrouvé accidentellement chez des sangliers ou des blaireaux ayant probablement consommé des rongeurs infectés (Dondo *et al.*, 2007 ; Smith *et al.*, 2009 ). Contrairement à la culture, la PCR permet la mise en évidence de bactéries vivantes ou mortes mais ne permet toutefois pas de faire la distinction entre les deux. Un autre inconvénient réside dans son cout beaucoup plus élevé que la culture.

#### **5.4 Le spoligotypage**

Les techniques de spoligotypages sont fondées sur l'analyse de certaines portions du génome des mycobactéries par des techniques de biologie moléculaire. Le principe du spoligotypage est de révéler la présence ou l'absence de segments spécifiques du génome ou de révéler des différences numériques entre isolats. Il est ainsi possible d'avoir une description plus détaillée des isolats de *M. bovis* en allant au delà de l'espèce ou de la sous espèce.

Le spoligotypage des souches de *M. bovis* passe par l'analyse de la région D.R. (*Direct Repeat* ou séquences répétées directes), spécifique du complexe *tuberculosis*. Il existe

plusieurs séquences D.R. par génome, toute constituée de l'alternance régulière de types de séquences (Haddad *et al.*, 2004) :

- Des séquences identiques, appelées D.R. également ;
- Des séquences différentes les unes des autres, appelées *spacers*.

Le spoligotypage permet d'identifier 43 des *spacers* de la région D.R et ainsi d'obtenir 43 informations par isolat ce qui est considérable.

Cependant, chez *M. bovis* les *spacers* 3, 9, 16, 39 et 43 sont systématiquement absents, quelque soit la souche. Pour le typage de *M. bovis*, seules les informations provenant des 35 *spacers* restants permettent de caractériser la souche isolée. Ces 35 marqueurs assurent un polymorphisme élevé permettant de distinguer les différentes souches.

Le spoligotypage comprend deux étapes distinctes (Haddad *et al.*, 2004) :

- l'amplification des « *spacers* » : tous les « *spacers* » de la souche à typer sont amplifiés grâce à deux amorces spécifiques du segment constant D.R., a et b. Un marquage de l'amorce est réalisé afin de permettre de visualiser l'hybridation des « *spacers* » amplifiés ;
- l'hybridation : elle permet de révéler quels *spacers* sont présents chez l'isolat à typer grâce à une hybridation sur une membrane. Sur cette dernière, il a été fixé au préalable, de façon covalente 43 oligonucléotides correspondants aux 43 *spacers* (*oligospacers*) caractéristiques de la sous espèce étudiée (ici *M. bovis*). S'ils sont présents, les *spacers* amplifiés de l'isolat se lient à la ligne de la membrane correspondante, après dépôt des produits PCR de cet isolat sur une ligne perpendiculaire à la ligne de dépôt des « *oligospacers* ». Une même membrane permet ainsi d'étudier simultanément jusqu'à 45 isolats. Il ne reste plus alors qu'à révéler la présence des différents *spacers* amplifiés et hybridés précédemment. La présence d'un « *spacer* » amplifié se traduit par l'apparition d'une tâche noire à l'intersection de la ligne des « *oligospacers* » et des produits de PCR.

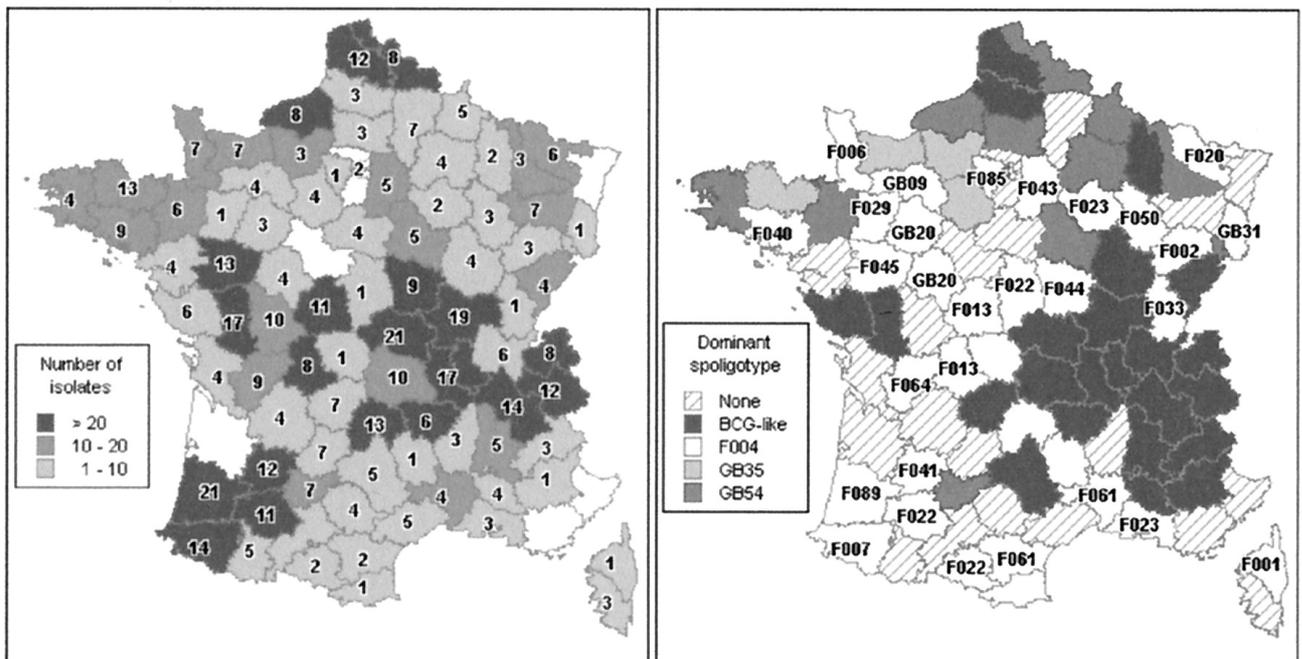
Au total, cette technique cette technique permet de décrire 161 spoligotypes différents et classés selon une nomenclature particulière (Haddad *et al.*, 2004) :

- « *BCG like* » : ces souches ont un profil identique à celui du spoligotype des souches vaccinales de *M. bovis* BCG ;
- « GB » : pour Grande Bretagne, les profils obtenus sont identiques à ceux de souches précédemment obtenues en Grande Bretagne. Ce sigle est suivi d'un numéro ;
- « F » : pour France, les profils obtenus ont été identifiés et décrits pour la première fois en France. Le sigle est également suivi d'un numéro.

A partir des données obtenues par spoligotypage, une cartographie des différents spoligotypes peut être réalisée. Les quatre spoligotypes les plus fréquemment rencontrés en France sont les spoligotypes BCG-like, GB54, GB35 et F004. Ils sont assez largement répartis avec quelques petites spécificités, la souche BCG-like est plus fréquemment isolée dans le centre-est du pays, la souche GB54 plutôt dans le nord du pays, F004 est surtout dans le sud du Massif Central et enfin, GB35 est réparti sur tout le territoire (Haddad *et al.*, 2004 ;

Haddad *et al.*, 2001). La figure 2 permet de situer les différents spoligotypes isolés en France. Depuis 2001, une diminution de la variabilité des souches de *M. bovis* a été constatée en France. Deux spoligotypes prédominent actuellement en France : BCG *like* et GB35, représentant respectivement 30 % et 14 % (Hauer).

**Figure 2.** Répartition géographique des isolats et spoligotypes français. (À gauche) Nombre d'isolats et le nombre de spoligotypes par département. (À droite) spoligotype dominant par département (Haddad *et al.*, 2001)



La majorité de ces souches ont été isolées principalement chez des bovins, mais il ne semble pas y avoir d'affinité donnée d'une souche particulière pour une espèce particulière. La souche GB54 se distingue des autres souches pour son tropisme d'espèce très large, elle a été isolée chez les bovins, les singes, les cervidés d'élevage ou encore chez des sangliers sauvages ce qui témoigne de sa capacité à s'adapter à différentes espèces (Haddad *et al.*, 2004).

Le typage de *M. bovis* est utile dans (Haddad et Durand, 2001) (Barnes et Cave, 2003) :

- la recherche de l'origine d'un foyer tuberculeux ;
- la mise en évidence d'une transmission inter-espèce ;
- la mise en évidence d'une double infection ou réinfection ;
- la mise en évidence de contaminations au laboratoire.

Le spoligotypage a montré que cervidés et sangliers étaient infectés par des souches similaires de *M. bovis* que les bovins en France et en Espagne, suggérant une transmission inter-espèce des bovins vers les animaux de la faune sauvage (Aranaz *et al.*, 1996) (Afssa 2009).

## **5.5 L'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou VNTR (= *Variable number tandem repeat*)**

Les VNTR, appelés également microsatellites, sont des séquences répétées au sein du génome. Ce sont des motifs nucléotidiques associées en tandem entre 10 et 50 fois. Il existe différents motifs plus ou moins complexes, le nombre de fois qu'un motif est répété dans le génome constitue un allèle de microsatellite. Ainsi on parle de polymorphisme de longueur. L'utilisation d'enzymes de restriction permet la digestion de l'ADN du génome à l'exception des motifs recherchés. Les motifs une fois isolés sont amplifiés par PCR à l'aide de sondes spécifiques. Des techniques de séparation en fonction de la taille ou de la séquence directe permettent de mettre en évidence des variations de longueur pour un même microsatellite et donc de déterminer l'allèle présent pour la souche à typer (Thorel, 2003) (Barnetche, 2007).

Cette technique est couramment utilisée pour les tests de paternité ou la cartographie génétique humaine, elle a également été mise en œuvre pour l'étude de certaines bactéries dont les mycobactéries et le *Mycobacterium tuberculosis complex* en particulier. Il existe un certain nombre de motifs utilisés pour l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction des mycobactéries. Ils peuvent être associés pour obtenir une plus grande combinaison d'allèles possibles (Frothingham et Meeker-O'Connell, 1998). Comme pour le spoligotypage, cette technique permet d'obtenir une information plus précise sur la souche de *M. bovis* rencontrée. Les applications pratique du VNTR sont les mêmes que le spoligotypage.

## **II. Les lésions**

### **1. Description des lésions**

Les lésions de tuberculose peuvent être bien délimitées et former des tubercules, ou bien plus étendues et mal délimitées donnant lieu a des épanchements ou des infiltrations (Jubb *et al.*, 2007).

Les tubercules sont blancs jaunâtres et la taille varie de 1 à 40 mm en fonction du degré d'évolution, la taille augmentant avec le temps. Le contenu des tubercules varie également, il est plutôt solide avec un foyer centrale de nécrose en début d'infection puis évolue vers une consistance plus liquide (le caséum). En fin d'évolution, les tubercules ont tendance à se durcir. Les mycobactéries présentes dans le caséum sont incapables de se multiplier mais peuvent rester dormantes jusqu'au jour où un épisode d'immunodépression favorise la réactivation de la maladie (Jubb *et al.*, 2007).

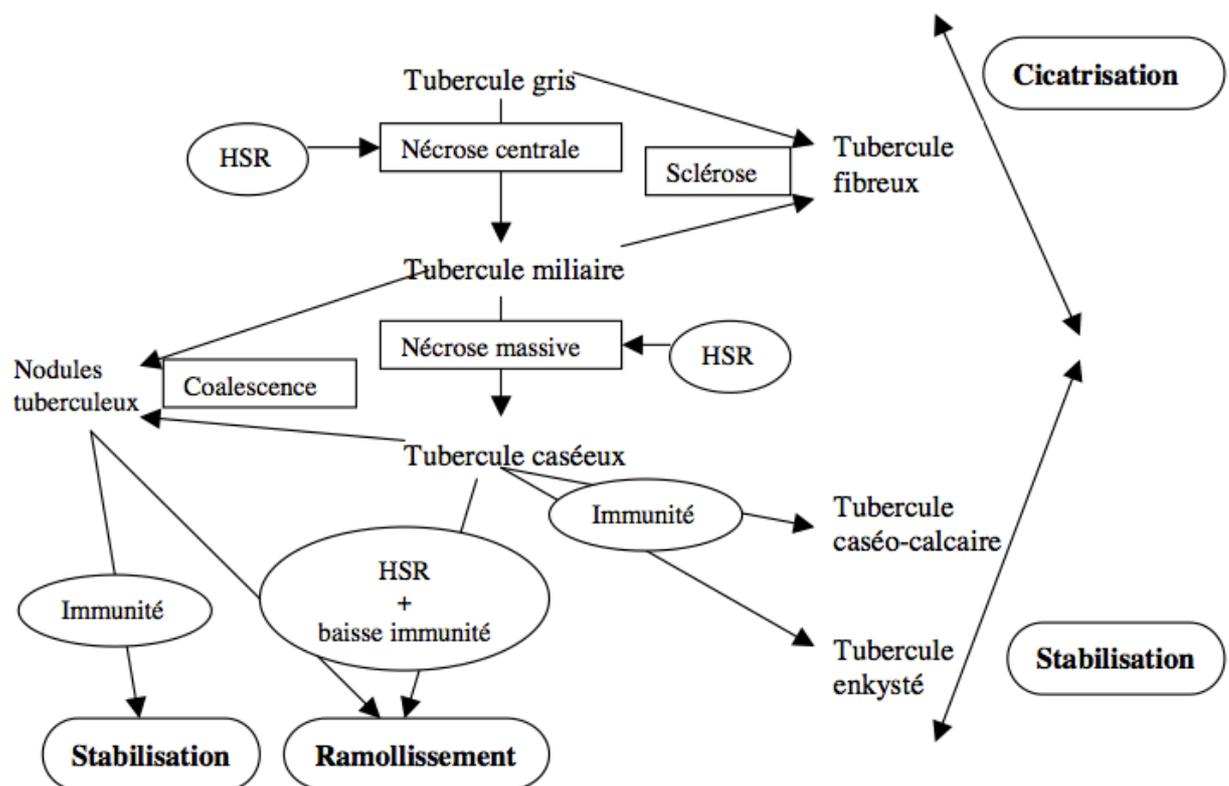
Selon la taille, la consistance ou la couleur, différents types de tubercules sont décrits, (Fig 3.) :

- Le tubercule gris a la taille d'une tête d'épingle, de teinte grise et translucide ;
- Le tubercule miliaire est plus volumineux, de la taille d'un grain de mil, au centre on distingue une substance pâteuse blanche-jaunâtre : le caséum ;

- Le tubercule caséux a la taille d'une noisette ou d'un pois, la présence de caséum lui confère une teinte jaunâtre et la consistance du mastic ;
- Le tubercule caséo-calcaire est plus gros, blanc jaunâtre, le caséum est remplacé par une structure minéralisée crissant à la coupe ;
- Le tubercule enkysté est recouvert par une enveloppe scléreuse ;
- Le tubercule fibreux a une taille variable, blanc nacré, il ne contient plus de caséum et est induré.

Selon la composition du granulome, de son degré de minéralisation, il est possible de dater approximativement un granulome (Palmer *et al.*, 2002).

**Figure 3.** Evolution des lésions circonscrites de tuberculose d'après Cours d'anatomie pathologique et pathologie générale (Nantes, 2001)



HSR= Hypersensibilité retardée

L'action combinée de différentes enzymes peut conduire à la liquéfaction des tubercules favorisant l'élimination du caséum par une voie de drainage naturelle (bronche, anse intestinale). Le caséum peut également être évacué par ulcération de la peau ou d'une muqueuse ou bien rester en place et former un abcès froid. La rupture de ces abcès est possible, libérant de nombreuses mycobactéries.

Les mycobactéries peuvent ainsi atteindre les vaisseaux lymphatiques, le flux sanguin ou une voie de drainage (respiratoire ou digestive), favorisant une dissémination des

mycobactéries au sein et à l'extérieur de l'organisme. En cas d'ouverture d'un abcès vers l'extérieur on parle de lésions « ouvertes » par opposition aux tubercules que l'on qualifie de lésions « fermées ».

Les infiltrations sont des lésions mal délimitées, d'origine exsudative pouvant s'étendre à tout un organe. On les retrouve principalement dans les poumons. Les infiltrats sont le lieu d'une multiplication extracellulaire importante des mycobactéries. Une caséification de l'ensemble de l'exsudat est possible, on parle alors de d'infiltration caséuse.

Les épanchements tuberculeux ont lieu dans les cavités séreuses :

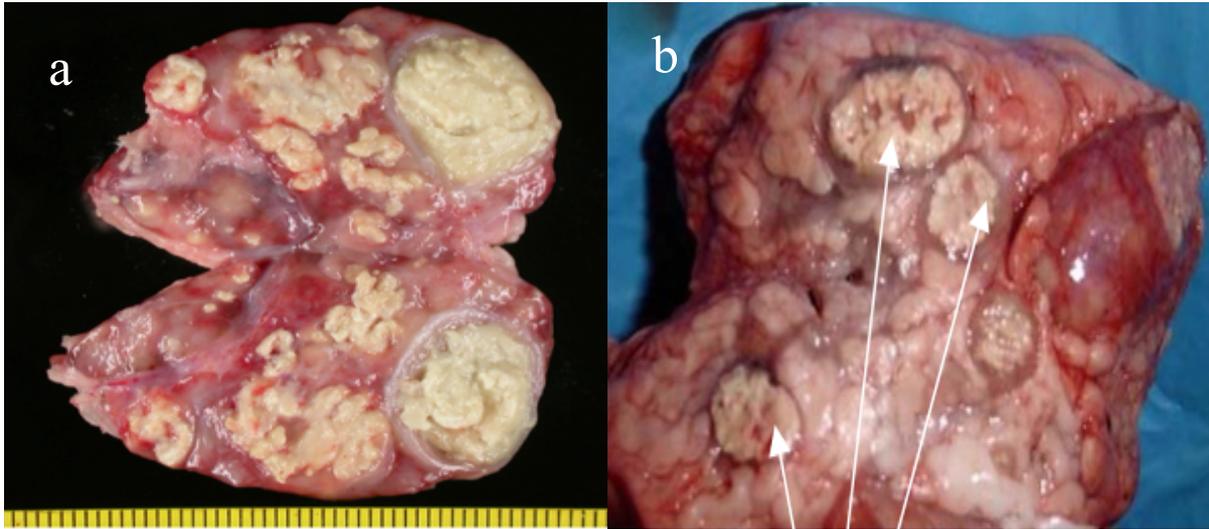
- péritoine,
- plèvre,
- péricarde.

Plus rarement, des épanchements peuvent également se produire dans les articulations ou les méninges. L'épanchement contient un exsudat inflammatoire séro-fibrineux riche en cellules lymphocytaires.

## **2. Localisation des lésions**

Peu après l'infection, les mycobactéries gagnent le nœud lymphatique (NL) locorégional au site de l'infection. Ainsi les NL sont la catégorie d'organe la plus fréquemment touchée par la tuberculose. *M. bovis* étant capable de pénétrer au sein de l'organisme par différentes voies et pouvant se propager par voie lymphatique, de très nombreux NL sont susceptibles d'être atteints. Les plus touchés sont les NL céphaliques (rétro-pharyngiens et mandibulaires), pulmonaires et mésentériques (figure 4). Les NL rénaux et hépatiques peuvent également être atteints mais dans une moindre mesure (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

**Figure 4.** Lésions de nœuds lymphatiques de sangliers (a) : lésion calcifiée d'un NL mandibulaire (b) : lésion caséuse de NL mésentériques (Duvauchelle, 2007 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007)



Dans les stades plus avancés, d'autres organes que les NL peuvent être atteints. Il s'agit principalement des poumons, du tube digestif, de la rate et du foie. Occasionnellement, la glande mammaire peut également être atteinte (Duvauchelle, 2007 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007).

La localisation des lésions permet dans certains cas de déterminer par quelle voie un individu s'est infecté. Une atteinte des NL pulmonaires et / ou du poumon témoigne d'une infection par voie respiratoire. De même une atteinte des NL mésentériques suggère une contamination alimentaire. Par contre, pour les cas de tuberculose généralisée à plusieurs appareils, il est impossible de remonter à la source de l'infection.

Concernant les animaux présentant des lésions restreintes aux NL mandibulaires, ces NL drainent les régions nasales, buccales et amygdaliennes. Il s'avère donc impossible de déterminer dans ces cas là si la contamination est respiratoire ou digestive (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

### 3. Variations en fonction des espèces

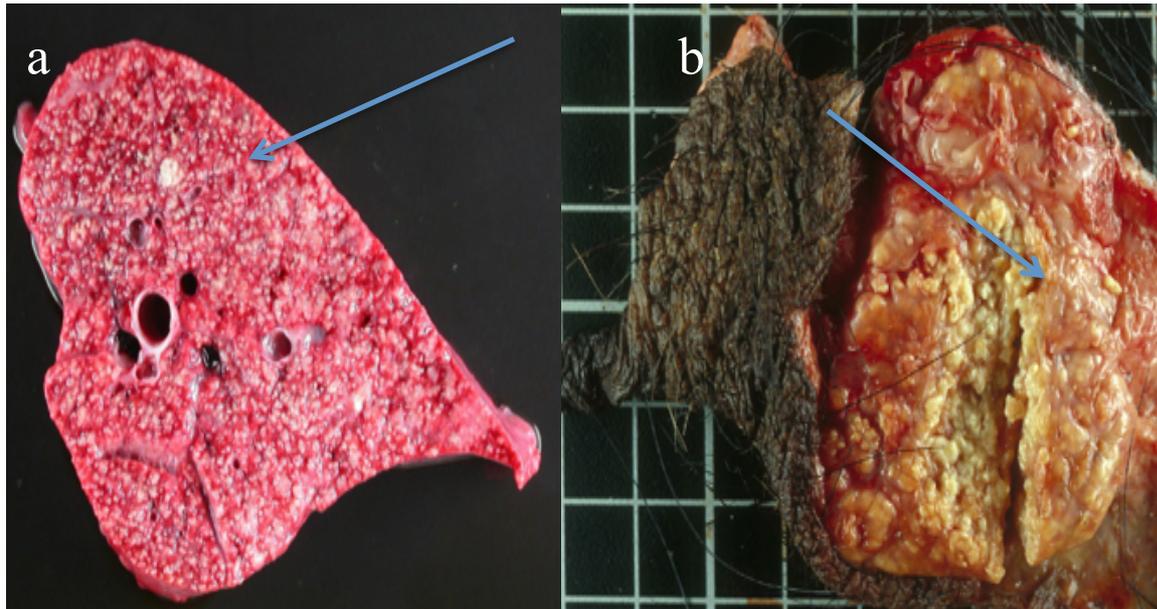
#### 3.1 Particularités chez le sanglier

Chez le sanglier, la localisation préférentielle des lésions caractéristiques de la tuberculose est au niveau des ganglions céphaliques (figure 4a). Plus précisément, une atteinte des NL retropharyngiens est présente dans 92,4 % des cas où *M. bovis* est isolé chez un sanglier. La taille des tubercules varie de 1mm à 3-4cm de diamètre avec une majorité de tubercules caséo-calcaires présentant un fort degré de minéralisation (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

Des cas de sangliers présentant des lésions de tuberculoses plus étendues, voir généralisées sont également décrits. De multiples organes autres que les nœuds lymphatiques tels que ceux

décrit plus haut sont alors touchés (figure 5). La fréquence des cas de tuberculose généralisée chez le sanglier est très variable en fonction des régions, elle est faible en Nouvelle Zélande mais assez élevée dans certaines régions d'Espagne (Corner *et al.*, 1981 ; Duvauchelle, 2007 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007). L'annexe 1 décrit la localisation des lésions sur l'ensemble des sangliers examinés en forêt de Brotonne sur la saison de chasse 2005-2006 (Duvauchelle, 2007).

**Figure 5.** Lésions tuberculeuses généralisées chez le sanglier (a) au niveau du poumon (b) au niveau de la glande mammaire (Martín-Hernando *et al.*, 2007)



La taille importante et le degré de minéralisation des lésions affectant les ganglions mandibulaires témoignent de l'ancienneté de l'infection tandis que la présence de granulomes de petite taille dans des organes variés associé à des granulomes plus grands et à des stades plus avancés témoigne d'une dissémination par voie hématogène de *M. bovis* (tuberculose miliaire).

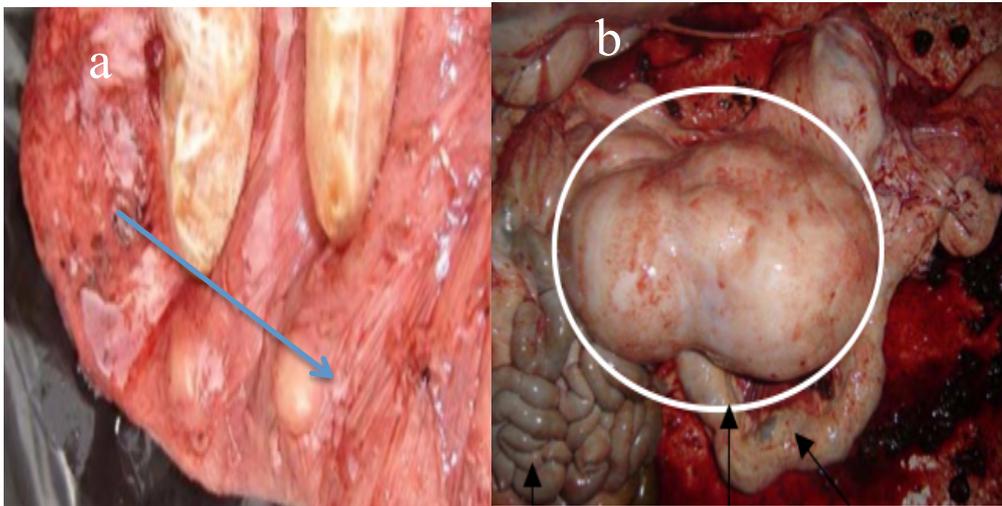
### 3.2 Particularités chez le cerf

Chez le cerf, la taille des lésions varie de 1mm de diamètre pour les tubercules miliaires jusqu'à plus de 30 cm pour les tubercules ou abcès les plus larges. La nature des tubercules est variable, elle va du tubercule caséo-calcaire au volumineux abcès caséux (figure 6). L'aspect des lésions est proche de celui décrit chez les bovins à quelques différences prêtes (Rhyan *et al.*, 1992):

- la minéralisation n'est pas aussi étendue que chez les bovins ;
- les lésions contiennent moins de cellules géantes que chez les bovins ;
- plusieurs lésions contiennent un nombre important de mycobactéries ce qui est inhabituel chez les bovins.

Ces différentes observations suggèrent que le cerf serait plus sensible que le bovin à *M. bovis* et potentiellement fortement excréteur (Jubb *et al.*, 2007).

**Figure 6.** Lésions de tuberculose chez des cervidés (a) abcès pulmonaires (b) volumineux abcès mésentérique (Duvauchelle, 2007)



Les lésions sont souvent localisées aux ganglions rétropharyngiens aux poumons et ses ganglions associés ainsi qu'aux ganglions mésentériques (Duvauchelle, 2007). Au niveau des poumons et des autres organes, les abcès caséux sont souvent très proches des tubercules caséo-calcaires (Rhyan *et al.*, 1992).

L'annexe 2 décrit la localisation des lésions sur l'ensemble des cervidés examinés en forêt de Brotonne sur la saison de chasse 2005-2006 (Duvauchelle, 2007).

### III. Modalités de transmission de *M. bovis*

#### 1. Hôtes et réservoirs dans la faune sauvage

La transmission intra ou inter-espèce de la tuberculose dépend de nombreux paramètres. La première condition nécessaire est la présence d'animaux infectés, appelés source de contamination (Corner, 2006 ; Anses, 2011 ; Payne, 2014). Ces sources de contamination sont multiples et varient dans le monde. Il est admis que l'hôte principal et initial de *M. bovis* est le bovin, cependant différentes études à travers le monde ont révélé que de nombreuses autres espèces, aussi bien de la faune domestique que de la faune sauvage, peuvent héberger et transmettre *M. bovis*.

Par exemple en Nouvelle Zélande des foyers de tuberculose dus à *M. bovis* ont été découverts dans des populations de possums et de cerfs élaphe (Mackintosh *et al.*, 2004). Aux Etats Unis c'est chez le cerf sauvage à queue blanche ou cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) qu'un foyer a été découvert pour la première fois en 1994 et est considéré comme hôte réservoir depuis 2004 (Fitzgerald *et al.*, 2009). En Europe, trois espèces sauvages ont été mises en évidence comme pouvant héberger *M. bovis* et jouant un rôle important dans le maintien de la tuberculose bovine. Ces espèces sont le blaireau (*Meles meles*), le cerf élaphe (*Cervus elaphus*) et le sanglier (*Sus scrofa*). Le blaireau est présent presque partout en Europe

mais avec des densités qui peuvent varier considérablement. *M. bovis* a été isolé chez des blaireaux en Espagne, en France, mais le Royaume Uni et l'Irlande sont là où les taux de prévalence sont les plus importants (Bourne, 2007).

La présence de tuberculose à *M. bovis* chez les sangliers a également été mise en évidence dans différents pays d'Europe mais plus particulièrement en Espagne, en Italie et en France.

Enfin le cerf est également un hôte potentiel de *M. bovis*, ceci a été observé notamment en Espagne et en France. De très nombreuses espèces animales à travers le monde sont susceptibles d'être infectées par *M. bovis*. Cependant toutes ces espèces n'ont pas la même importance dans l'épidémiologie de la tuberculose. Selon la capacité de ces espèces à transmettre la tuberculose, on les qualifie de réservoirs, d'hôtes transmetteurs, ou de culs de sac épidémiologiques (Hars *et al.*, 2006 ; Payne *et al.*, 2014).

## **2. Les voies d'excrétion et matières virulentes**

### **2.1 Les voies d'excrétion**

La présence de cas de tuberculose dans une espèce, quel que soit le taux de prévalence, n'est pas une condition suffisante pour affirmer qu'elle constitue un réservoir. Par exemple, en Australie des cas de tuberculose ont été rapportés chez des porcs sauvages. Il s'avère que dans certaines régions la prévalence de la tuberculose chez cette espèce peut atteindre jusqu'à 40 %. Cependant, la grande majorité des individus infectés ne présente que des lésions confinées aux nœuds lymphatiques céphaliques et n'excrète pas ou très peu *M. bovis*. Bien que localement la prévalence de la tuberculose puisse être très élevée chez les porcs sauvages, ils ne jouent toutefois pas un rôle majeur dans l'entretien de la tuberculose. Ils ne constituent donc pas un réservoir.

Ainsi, l'excrétion est un facteur très important dans la compréhension de l'épidémiologie de la tuberculose au sein de la faune sauvage.

Cependant, il s'avère difficile de mesurer précisément l'excrétion de *M. bovis* au sein de la faune sauvage. Malgré cette difficulté, une estimation de l'excrétion, fondée sur l'analyse macroscopique et histologique des lésions, permet d'évaluer une éventuelle excrétion de *M. bovis* chez les individus infectés (Payne *et al.*, 2014).

Il a en effet été prouvé que le degré d'infection d'un animal est directement corrélé au degré d'infection et au nombre d'animaux atteints (Griffin et Mackintosh, 2000).

Comme il a été décrit plus haut, la tuberculose atteint principalement les nœuds lymphatiques mais également de nombreux autres organes. Cette atteinte multi-systémique laisse supposer différentes voies d'excrétion pour les animaux dont l'évolution de la maladie atteint les stades les plus avancés.

La confirmation de l'excrétion à travers un organe atteint nécessite une analyse minutieuse des lésions. Comme il a été mentionné plus haut, les lésions tuberculeuses peuvent être divisées en deux catégories.

Les lésions dites « fermées » correspondent à un confinement de *M. bovis* à l'intérieur de ces

lésions. La réponse immunitaire semble contrôler le développement de la tuberculose et semble empêcher ou du moins limiter l'excrétion de *M. bovis*.

Les lésions « ouvertes » traduisent un échappement de *M. bovis* à la réponse immunitaire et laisse supposer une excrétion massive de la bactérie. Ainsi les animaux porteurs de lésions ouvertes correspondent à la classe la plus à risque, car excrétaient massivement *M. bovis* ils sont une source majeure de contamination.

L'analyse des différentes lésions permet donc dans un premier temps de statuer sur l'importance de l'excrétion de *M. bovis* mais aussi par quelles voies l'excrétion a lieu. En effet, une atteinte des poumons suggère une excrétion pulmonaire via les aérosols, de même une atteinte digestive suggère une excrétion via les fèces.

Ainsi quatre voies d'excrétion ont été mises en évidence :

- l'excrétion pulmonaire sous forme d'aérosols,
- l'excrétion digestive via les fèces,
- l'excrétion salivaire,
- l'excrétion uro-génitale.

Ces voies d'excrétion ne sont pas systématiquement présentes chez toutes les espèces, le tableau 3 résume les voies d'excrétion connues ou supposées.

L'excrétion pulmonaire se produit lors de l'atteinte de l'arbre respiratoire profond, *M. bovis* est alors excrété à travers le nez ou la bouche. Chez le bovin, il a été prouvé que les animaux tuberculeux présentant des lésions des ganglions pulmonaires devaient être considérés comme excréteurs, même en l'absence de lésions pulmonaires (McIlroy *et al.*, 1986). Des données similaires ne sont pas disponibles sur les animaux de la faune sauvage mais l'on peut penser que comme pour le bovin, l'excrétion pulmonaire est une voie majeure d'excrétion.

L'excrétion digestive survient surtout lors d'atteinte de l'appareil digestif. Plus précisément il a été prouvé qu'une atteinte de la valve iléo-caecale contribue à l'excrétion de *M. bovis* (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

Enfin l'excrétion salivaire est également possible, elle survient lors de lésions des nœuds lymphatiques mandibulaires, même bien circonscrites. En effet à partir de ces lésions *M. bovis* atteint les glandes salivaires où son excrétion dans la salive est possible. Ceci a été confirmé par l'observation de *M. bovis* dans des canaux excrétoires des glandes salivaires de sangliers. De plus, une atteinte des amygdales contribue également à une excrétion à travers la salive (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

En plus de ces trois voies d'excrétion, d'autres voies plus anecdotiques ont été mises en évidence.

Quelques sangliers présentaient des lésions des glandes mammaires suggérant qu'une excrétion dans le lait est possible (Martín-Hernando *et al.*, 2007). Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'excrétion de *M. bovis* dans le lait est bien connue dans l'espèce bovine.

Les cas de tuberculose rénale sont fréquents chez l'homme où *M. bovis* est susceptible

de coloniser l'ensemble du tractus urinaire, voir même de l'épididyme. De telles lésions sont à l'origine d'une excrétion par voie urinaire et par voie vénérienne de *M. bovis*. La contagiosité du sperme est d'ailleurs décrite chez les bovins (Benet et Praud, 2013).

Chez le sanglier une éventuelle excrétion par voie urinaire a longtemps fait débat après la découverte de lésions sur les nœuds lymphatiques drainant les reins chez trois individus (Martín-Hernando *et al.*, 2007), ces observations étaient en faveur d'une excrétion urinaire, cependant aucune lésion de tuberculose sur les reins n'a jamais été observée. L'excrétion urinaire de *M. bovis* n'est pas pour autant exclue mais peut être considérée comme négligeable (Naranjo *et al.*, 2008). Par contre les cas de tuberculose rénale sont fréquents chez le blaireau qui est susceptible d'excréter massivement *M. bovis* dans ses urines (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000).

**Tableau 3.** Synthèse des différentes voies d'excrétions chez les espèces concernées (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007 ; Benet et Praud, 2013).

Espèce concernée	Voies d'excrétion
Bovin	Respiratoire, digestive, mammaire, (vénérienne)
Cerf	Respiratoire, digestive
Sanglier	Respiratoire, digestive, mammaire
Blaireau	Respiratoire, digestive, urinaire, mammaire

## 2.2 Les matières virulentes

Etant donné les multiples voies d'excrétion de *M. bovis* et sa capacité à résister dans le milieu extérieur, une contamination de l'environnement est possible favorisant la transmission indirecte de la tuberculose.

Bien que les capacités de *M. bovis* à survivre dans le milieu extérieur soient connues depuis des années, les diverses études conduites sur ce sujet aboutissaient à la conclusion que la transmission indirecte de la tuberculose ne jouait pas un rôle significatif dans l'épidémiologie de la tuberculose. Cependant, la découverte de cas de tuberculose et la constitution de réservoirs au sein de la faune sauvage a redonné un intérêt à l'étude de la survie de *M. bovis* dans l'environnement et à l'importance de la transmission indirecte.

*M. bovis* pouvant être excrété *via* les fèces, la salive, les expectorations, les urines ou encore le lait ; de très nombreux supports peuvent être contaminés et permettre la transmission de la tuberculose. Diverses études ont également montré que *M. bovis* était capable de survivre dans de nombreux supports, renforçant l'idée que la transmission indirecte est non négligeable.

*M. bovis* pouvant être excrété de multiples manières, il existe de nombreuses matières virulentes différentes susceptibles de contaminer divers supports. Les différentes matières virulentes connues sont décrites si dessous par ordre d'importance.

### **2.2.1 Les expectorations et les jetages**

En cas de tuberculose pulmonaire, forme très fréquente chez le bovin, des mycobactéries peuvent être excrétées sous forme d'aérosol (Cassidy, 2006). Ces particules infectieuses en suspension sont alors susceptibles d'atteindre directement l'arbre respiratoire d'un autre individu à proximité ou bien de contaminer un support à l'origine d'une transmission indirecte de *M. bovis*. Les principaux supports susceptibles d'être contaminés par les expectorations et les jetages seront développés plus loin.

### **2.2.2 Les fèces**

En cas de forme digestive ou bien lors de forme respiratoire car un animal malade peut ingérer ses expectorations, les fèces peuvent être riches en bacilles et favoriser la dispersion de *M. bovis* dans le milieu extérieur (Palmer *et al.*, 2001).

### **2.2.3 La salive**

Lors de lésion des ganglions mandibulaires la salive est une voie d'excrétion possible de *M. bovis* et constitue ainsi une matière virulente non négligeable. Les bacilles sont excrétés sous forme d'aérosols et peuvent aussi bien être inhalées qu'ingérées par d'autres animaux (Martín-Hernando *et al.*, 2007).

### **2.2.4 Le lait**

La présence de *M. bovis* dans le lait de vache est connue depuis de nombreuses années et la pasteurisation du lait a permis de limiter les risques de transmission à l'homme, mais également aux porcs en Nouvelle Zélande qui étaient en partie nourris avec du lait de vache (de Lisle, 1994). La transmission pseudo verticale de la tuberculose *via* le lait a également été montrée chez le blaireau et le possum (Morris *et al.*, 1994). Il n'existe pas de données chez le sanglier ni chez les cervidés, mais étant donné la proximité génétique entre le porc domestique et le sanglier, il paraît probable que la transmission de la tuberculose *via* le lait soit possible chez le sanglier.

### **2.2.5 L'urine**

L'urine peut être virulente en cas de forme rénale ou de forme généralisé. Cette forme est décrite chez le blaireau et le porc domestique notamment. Comme pour les fèces, l'urine est susceptible de contaminer de très nombreux supports (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000).

### **2.2.6 Le sperme**

En cas d'atteinte du testicule ou de l'épididyme, le sperme peut s'avérer être virulent et être à l'origine d'une transmission par voie vénérienne. Cette forme est décrite chez le bovin mais reste rare (Benet et Praud, 2013).

## 2.3 Les supports à risque

Etant donné les nombreuses matières virulentes connues, de multiples supports sont susceptibles d'être contaminés et sont considérés comme support à risque, susceptible des souches viables de *M. bovis*.

### 2.3.1 L'eau

L'eau correspond à un des milieux où *M. bovis* est susceptible de survivre le plus longtemps et peut être contaminée par la salive d'un individu infecté. Les points d'eau sont des lieux où les animaux infectés peuvent s'abreuver et ainsi contaminer l'eau à partir de laquelle les animaux sains s'infectent par transmission indirecte. Ils sont des lieux de rencontre importants, d'autant plus dans les régions méditerranéennes (ex : l'Espagne) où les points d'eaux sont limités, et peuvent jouer un non négligeable dans la transmission directe intra et inter-espèce de la tuberculose. Cependant la consistance liquide de ce milieu entraîne une dilution immédiate de la charge bactérienne qui réduit le pouvoir infectant représenté par ces eaux contaminées (Corner, 2006).

### 2.3.2 Les pâtures et les forêts

La présence d'animaux infectés dans une pâture peut la contaminer de différentes façons :

- *via* les fèces,
- *via* la salive concernant les herbivores,
- *via* les expectorations.

Les animaux peuvent se contaminer en ingérant de l'herbe contaminée, ou bien en fouillant le sol comme c'est le cas des sangliers par exemple. Le comportement fouisseur des sangliers et des blaireaux est à l'origine d'une contamination en profondeur des sols, favorisant la survie de *M. bovis*. Les vers de terre permettent une remontée ultérieure des mycobactéries, qui sont ainsi à portée d'autre animaux.

Les pâtures ne sont pas le support sur lequel *M. bovis* est le plus résistant, surtout en cas de forte chaleur et d'ensoleillement. De plus, les pâtures ont beau ne pas être un milieu liquide comme l'eau, étant donné la quantité d'herbe disponible, il est possible de considérer que les mycobactéries excrétées sont rapidement diluées dans l'étendue d'herbe à disposition. Cette notion de dilution est notamment un des arguments avancés pour expliquer l'absence de résultats positifs dans la recherche de *M. bovis* dans divers substrats incluant l'herbe des pâtures (Fine *et al.*, 2011).

Il n'empêche que la contamination de veaux à partir de prairies contaminées a été démontré expérimentalement, cette observation doit toutefois être nuancée par le fait que l'herbage a été très fortement contaminé (2,5 millions de bacilles au m<sup>2</sup> initialement) et il paraît difficilement

envisageable qu'une telle concentration de bacille tuberculeux puisse être observée dans la nature (Maddock, 1934).

Du fait de son abondance et de la faible résistance de *M. bovis* dans les pâtures, l'herbe ne semble pas jouer un rôle majeur dans l'épidémiologie de la tuberculose, par contre des éléments tels que des points fixes au sein des pâtures (abreuvoir, pierre à sel, auge) où les animaux domestiques ou sauvages ont accès et se rassemblent jouent probablement un rôle plus important.

Les pâtures constituent un lieu de rencontre potentiel entre bovins et animaux sauvages. Les pâtures ont probablement joué un rôle important dans la transmission directe ou indirecte de la tuberculose aux animaux de la faune sauvage, désormais les pâtures constituent également un risque de recontamination des bovins par la faune sauvage.

Concernant l'herbe et les autres végétaux consommés par les animaux sauvages dans les forêts, ils peuvent également être contaminés par des animaux infectés de la même manière que pour les pâtures. Par contre il a été démontré que la durée de survie de *M. bovis* en forêt est significativement plus importante que dans les pâtures, probablement grâce à l'abri à la lumière et au taux d'humidité plus important conféré par les arbres (Jackson *et al.*, 1995). D'ailleurs, dans le centre de l'Espagne, les sangliers et cervidés vivant dans les zones boisées de chênes en particulier (*Quercus spp.*) ont plus de risque de contracter *M. bovis* que ceux vivant dans les milieux plus ouverts (Vicente *et al.*, 2006). Cependant l'étude ne précise pas comment ces animaux contractent la tuberculose. Or, comme pour les pâtures, la ressource alimentaire est répartie sur une telle surface que même si la durée de survie est plus importante à l'abri des arbres, la probabilité qu'un individu naïf ingère ou inhale une quantité suffisante de mycobactéries viables en consommant de l'herbe ou d'autres végétaux reste faible.

### **2.3.3 Suppléments alimentaires apportés par l'homme au gibier**

Les suppléments alimentaires apportés par l'homme aux animaux sauvages sont multiples, c'est une pratique très répandue dans le milieu de la chasse. Ces apports ont plusieurs buts :

- limiter les dégâts causés par les animaux dans les cultures agricoles et / ou sylvicoles ;
- cantonner les animaux sauvages sur un territoire donné ;
- optimiser le développement et la reproduction des espèces chassables ;
- soutenir les populations d'animaux sauvages pendant l'hiver lorsque la nourriture se fait rare.

Les suppléments alimentaires sont très variés, il peut s'agir de :

- fourrages divers, mais surtout du foin destiné aux cervidés et aux chevreuils, ce type de supplémentation est fréquemment réalisé aux Etats Unis par les chasseurs de cerf de Virginie (Schmitt *et al.*, 1997) ;
- de maïs grain destiné à l'alimentation du grand gibier en général ;

- de pierre à lécher destiné au grand gibier.

Ces différents aliments ont en commun le fait qu'ils sont nettement moins disponibles et moins répartis que des aliments comme l'herbe. Ils sont également très appréciés par les animaux sauvages et donc la probabilité qu'un animal infecté contamine ce type de denrées et qu'un autre s'y contamine est plus importante.

L'exemple de la pierre à lécher est un exemple bien connu dans l'espèce bovine. C'est un aliment très prisé par les bovins qui s'y succèdent. Ces pierres, hautement contaminées par la salive et les expectorations jouent ainsi un rôle important dans la transmission de la tuberculose à l'intérieur d'un élevage. Un parallèle avec l'espèce bovine peut vraisemblablement être fait.

#### **2.3.4 Les carcasses**

Les espèces nécrophages telles que les sangliers, les renards ou les blaireaux peuvent avoir facilement accès aux carcasses d'animaux morts de tuberculose, d'animaux blessés et non retrouvés par les chasseurs, mais aussi aux viscères (têtes, intestins, poumons) jetés dans les forêts après l'éviscération et la découpe du gibier. Cette dernière pratique est courante dans le milieu de la chasse étant donné la difficulté d'accès à des bacs d'équarrissage.

Les carcasses d'animaux infectés sont susceptibles d'héberger *M. bovis* pendant quelques semaines après la mort de l'animal. Elles constituent donc un risque important dans la contamination des espèces nécrophages d'autant plus qu'en général les carcasses d'animaux sont rapidement consommées après la mort de l'animal alors que les mycobactéries présentes à l'intérieur sont encore vivantes.

### **3. Les voies de contamination et doses infectantes respectives**

Il existe trois voies de transmission connues de la tuberculose, il s'agit des voies :

- respiratoire,
- alimentaire,
- cutanée,
- verticale.

Pour les trois premières voies citées la transmission peut se faire directement d'un animal à un autre, ou bien indirectement par l'intermédiaire d'un support contaminé. Ces supports, ou matières virulentes, peuvent être de nature diverses comme il a été mentionné plus haut.

#### **3.1 La transmission par voie respiratoire**

La transmission par voie respiratoire, sous forme d'aérosols peut être directe ou bien indirecte. Les contacts mufles à mufles entre individus de la même espèce sont fréquents dans

de nombreuses espèces, comme c'est le cas chez les cervidés vivant en harde et les sangliers en compagnies. Les bovins sont extrêmement sensibles à cette voie, 5 bacilles contenus dans un aérosol suffisent à développer des lésions de tuberculose (Corner, 2006).

Expérimentalement, il a été prouvé que les porcs étaient capables de s'infecter à partir de poussières contenant des mycobactéries (Pakarinen *et al.*, 2007).

Aucune donnée n'est disponible chez le sanglier ni chez le cervidés, mais étant donné les résultats des études sur le porc et sur le bovin, nous pouvons supposer que la contamination par voie respiratoire est également possible et importante chez ces deux espèces, et à des doses infectantes nettement plus faible que pour la voie digestive.

Comme pour le bovin, la transmission par voie respiratoire est donc vraisemblablement la voie majeure de contamination des espèces sauvages.

### **3.2 La transmission par voie digestive**

La transmission alimentaire peut également être directe *via* le lait, mais surtout indirecte suite à l'ingestion de différents aliments contaminés par les fèces, les expectorations ou par la consommation de carcasses d'animaux contaminés. La dose infectante par voie alimentaire n'est connue chez aucune espèce de la faune sauvage, par contre elle est de l'ordre de plusieurs millions de mycobactéries chez les bovins. Cette relative résistance à l'infection par voie digestive est due à la sensibilité de *M. bovis* au pH acide du tube digestif (Palmer et Waters, 2006).

Expérimentalement, il a été prouvé que les sangliers étaient concernés par cette voie de transmission (de Lisle, 1994).

### **3.3 La transmission par voie cutanée**

La transmission par voie cutanée peut avoir lieu en cas de lésions de tuberculose « ouvertes » au niveau cutané et suite à un contact direct ou indirect avec un autre individu. Les contacts directs tels que des frottements sont courants entre individus de la même espèce. Chez le blaireau, des individus peuvent excréter *M. bovis* *via* la salive et transmettre fréquemment la tuberculose par voie cutanée en mordant un autre individu (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000).

Des contacts indirects peuvent également avoir lieu au niveau des souilles ou des arbres, notamment ceux recouverts de goudron de Norvège où les cervidés et les sangliers ont l'habitude de se frotter.

La voie cutanée semble être une voie mineure de transmission pour la majorité des espèces à l'exception du blaireau.

### **3.4 La transmission verticale**

La transmission *in utero* de *M. bovis* est connue chez plusieurs espèces dont les bovins, mais elle n'a pas été prouvée chez le sanglier ni le cerf. Cependant le foie d'un fœtus de biche infectée par *M. bovis* s'est révélé également infecté par *M. bovis*. Sous réserve qu'il

n'y ait pas eu de contaminations accidentelles, il s'agirait du premier cas décrit de transmission *in utero* de *M. Bovis* chez le cerf (Duvauchelle, 2007).

Une transmission pseudo verticale *via* la consommation de lait contaminé est également possible. Ce mode de transmission est décrit chez les bovins, les blaireaux, les possums... (Morris *et al.*, 1994). Les porcs peuvent également être contaminés lors de consommation de lait de vache contaminé. Ce mode de contamination pourrait expliquer l'infection de très jeunes animaux.

Des faons d'élevage ont contracté la tuberculose en ingérant du lait artificiellement contaminé prouvant qu'une telle contamination est possible (Palmer *et al.*, 2002). Cependant il n'a pas été prouvé que les biches infectées soient susceptibles d'excréter *M. bovis* dans le lait malgré quelques cas de biches infectées présentant des lésions de la glande mammaire. Par contre l'excrétion de *M. bovis*, même en l'absence de lésions de la glande mammaire est décrite chez les bovins (Sigurdsson, 1945).

La transmission pseudo verticale de la tuberculose est connue chez différentes espèces dont le blaireau mais n'a jamais été décrite chez le cerf ou le sanglier. Il paraît toutefois plausible qu'une telle transmission soit possible chez ces espèces.

#### **4. Les facteurs favorisants**

Quelque soit le mode de transmission de *M. bovis*, un certain nombre de facteurs, aussi bien génétiques, comportementaux ou liés à l'intervention de l'homme, peuvent favoriser la rencontre entre un individu sain et un individu infecté et donc favoriser la transmission de *M. bovis* dans une population donnée.

##### **4.1 Les facteurs intrinsèques**

###### **4.1.1 Prédispositions génétiques**

De très nombreuses espèces dans le monde sont susceptibles d'héberger *M. bovis*. Par contre, selon l'espèce, la sensibilité à l'infection et la résistance après l'infection ne sont pas les mêmes.

Les bovins, hôte historique de *M. bovis*, ainsi que les cervidés sont deux espèces très sensibles et très réceptives à l'infection par *M. bovis*.

Dès son plus jeune âge le sanglier contracte très facilement *M. bovis*, mais présente une sensibilité plus faibles contrairement à des espèces telles que les bovins ou les cervidés (Afssa, 2009). Le sanglier constitue ainsi une excellente sentinelle épidémiologique dans le cadre de la surveillance de la tuberculose. En Espagne, les sangliers semblent plus sensibles à *M. bovis*, suggérant des capacités de résistance de certaines lignées de sangliers d'Espagne plus faible ou bien d'une pression infectieuse plus forte que dans les autres pays (Naranjo *et al.*, 2008).

Ainsi selon l'espèce concernée, la réceptivité à l'infection et la vitesse d'évolution de la tuberculose ne sont pas les mêmes. Il existe également des disparités au sein d'une même

espèce à propos de ces deux paramètres. Chez l'homme et les bovins, la réceptivité à l'infection et la vitesse d'évolution ont une composante génétique qui est connue depuis très longtemps. Plus récemment une étude portant sur les sangliers a montré que la réceptivité à l'infection et la progression de la tuberculose dépendait du degré d'hétérozygotie. Lors d'exposition à *M. bovis*, les individus présentant un degré d'hétérozygotie élevé semblent plus aptes à résister à l'infection. De même, chez les individus infectés, ceux présentant un degré d'hétérozygotie élevé contrôlent mieux la propagation de la maladie (Acevedo-Whitehouse *et al.*, 2005). Plusieurs portions du génome sont associées à cette résistance à l'infection ou à la propagation de la tuberculose dont une région tout particulièrement. Cette région présente une très forte homologie avec une portion déjà identifiée chez d'autres espèces comme jouant un rôle dans la défense contre les pathogènes intracellulaires tels que les mycobactéries (Bernatchez et Landry, 2003). Cette observation témoigne de l'influence de la consanguinité dans les aptitudes d'un individu à lutter contre *M. bovis* avant ou après l'infection. L'étude suggère même que le degré d'hétérozygotie joue un rôle plus important que les facteurs démographiques et de gestion des populations dans l'épidémiologie de la tuberculose (Acevedo-Whitehouse *et al.*, 2005).

#### 4.1.2 Les comportements à risques

Le comportement nécrophage de certaines espèces telles que le sanglier, le blaireau ou le renard fait courir à ces espèces un risque important de contamination.

Les comportements sociaux tels que la vie en groupe favorisent les contacts directs entre animaux et augmente ainsi le risque de transmission de la tuberculose. Les cervidés possèdent une organisation sociale remarquable très hiérarchisée. Ils vivent pour la plupart en groupes matriarcaux, la biche accompagnée de son faon, de la bichette ou du daguet et d'autres descendants plus âgés dont des biches suitées. L'ensemble du groupe est conduit par la biche meneuse, mère du groupe. Durant l'hiver, plusieurs groupes peuvent se réunir et former une harde d'une vingtaine de têtes menée par une vieille biche bréhaigne. Les jeunes cerfs, de 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> tête et éventuellement de 2<sup>ème</sup> tête forment des petites hardes de coiffés. Cette organisation sociale chez le cerf, mélange des animaux d'âges divers favorisant les contacts directs, « mufler à mufler » favorables à la transmission de *M. bovis*. Les sangliers sont également une espèce sociale, organisée en compagnies. Les compagnies sont composées de quelques laies (2-3) ainsi que de leurs petits issus de la dernière reproduction. C'est une organisation très hiérarchisée avec une laie dominante appelée laie meneuse. Vers un an, les jeunes deviennent pubères et quittent la compagnie, les laies fécondées s'organisent à leur tour en compagnie après mise bas, les mâles quant à eux deviennent progressivement solitaires. Comme pour les cervidés, le comportement social grégaire des sangliers est un facteur favorisant la transmission de *M. bovis* au sein de l'espèce.

Le comportement sexuel peut également favoriser la circulation de *M. bovis* au sein d'une population. Tout d'abord en favorisant les contacts entre un male et une femelle lors du rut, mais également entre deux mâles lors des combats précédents le rut. Ces combats, bien connus notamment chez les cerfs lors du brame, existent également chez le sanglier. Ils

augmentent les contacts entre individus, mais sont également à l'origine d'un stress important, voir de blessures pouvant affecter la qualité de la réponse immunitaire. Lors du brame les cerfs s'alimentent très peu et peuvent perdre entre 10 et 20 kg. Cette faiblesse peut favoriser l'infection des cerfs mâles ou la réactivation de la tuberculose des animaux alors infectés.

Au moment du rut les sangliers, mâles et femelles marquent leur présence à l'aide de bave sur les arbres environnants. Cette bave, renflée ultérieurement par d'autres sangliers constitue également une possibilité de transmission de la tuberculose.

Les animaux peuvent également propager la tuberculose dans certaines régions épargnées jusque là. Certaines espèces ont un domaine vital très vaste et sont capables de parcourir de grandes distances quotidiennement. Les sangliers sont une espèce sédentaire mais ont un espace vital vaste, de l'ordre de 12 000 à 15 000 ha pour un sanglier mâle de 2 ans contre 1 000 à 6 000 ha pour une femelle du même âge (Fromeaux, 2001). Les déplacements quotidiens des sangliers sont de l'ordre de d'une dizaine de kilomètres mais peuvent atteindre jusqu'à 50 km en période de chasse ou lors du rut pour les mâles (Fromeaux, 2001).

Les cerfs ont un domaine vital plus restreint que les sangliers, il est d'environ 1 000 à 5 000 ha pour les mâles et seulement 500 à 2000 ha pour les femelles. Comme pour les sangliers, les déplacements des mâles sont beaucoup plus importants lors du brame (Bouquier, 2003).

Le chevreuil est un animal beaucoup plus territorial, son domaine vital se réduit à une vingtaine d'hectares en milieu forestier.

Sangliers et cervidés occupent un domaine très vaste de plusieurs milliers d'hectares et sont de ce fait capables de propager la tuberculose depuis une région infectée vers une région indemne. Ceci a été vérifié en Côte d'Or où suite à l'interdiction d'affourager, les populations de sanglier se sont déplacées en périphérie du foyer de tuberculose et l'ont ainsi probablement propagée (Anses, 2011)

## **4.2 Les facteurs extrinsèques**

D'autres facteurs non liés à l'espèce peuvent favoriser la transmission de la tuberculose et l'homme est souvent impliqué.

### **4.2.1 Densité de population et taux de prévalence**

La transmission de la tuberculose nécessite un contact direct ou indirect entre un individu infecté, excréteur et un individu naïf. La probabilité de cette rencontre dépend de deux paramètres essentiels (Naranjo *et al.*, 2008) :

- la densité des populations sensibles,
- le taux de prévalence dans les populations sensibles.

Plus ces paramètres sont élevés et plus les chances de transmission de la tuberculose sont grandes. Les densités d'animaux sauvages sont difficiles à évaluer précisément mais les estimations montrent une très forte augmentation des populations de sangliers et une augmentation moindre des cervidés en France au cours de ces 20 dernières années (Fournaise, 2013)

Il existe des zones boisées entièrement clôturées, destinées à la chasse. On qualifie ces structures de parcs de chasse, au sein de ces parcs les densités sont beaucoup plus élevées qu'en forêt « ouverte ». Dans certains parcs espagnols, les densités peuvent atteindre 30 à 100 sangliers/km<sup>2</sup> contre 10-12 sangliers/ km<sup>2</sup> en forêt de Brotonne (Afssa, 2009; Anses, 2011). Les fortes densités observées dans les parcs de chasse augmentent donc la probabilité de transmission de la tuberculose. Les parcs empêchent également la libre circulation des animaux et de ce fait les échanges de matériel génétique. A terme cela risque diminuer le degré d'hétérozygotie des individus et favoriser leur infection par *M. bovis* (Acevedo-Whitehouse *et al.*, 2005).

#### 4.2.2 Alimentation et abreuvement

De multiples aliments sont susceptibles d'être contaminés par *M. bovis* et de permettre une transmission de la tuberculose aux espèces sauvages. Cependant tous ne représente pas le même danger, ce sont les aliments apportés par l'homme (fourrages, maïs grain, fruits et légumes divers, pierres à sel...) qui représentent le plus grand risque. Ces aliments sont distribués au mieux sur un circuit linéaire, au pire à un certain nombre de postes fixes. Avec une telle distribution, une concentration des animaux est possible au niveau de ces points d'affouragements ou d'agrainage, la probabilité de rencontre entre un individu contaminé et un individu sain est alors beaucoup plus élevée sur ces lieux qu'ailleurs dans la forêt. Les points d'eaux sont également des lieux importants de rencontre pour les animaux sauvages, d'autant plus dans les régions du pourtour méditerranéen où l'eau est une denrée rare. Même si l'eau en elle même présente un risque relativement faible dans la transmission de la tuberculose, elle constitue un lieu de concentration des animaux. Le risque induit par les points d'eaux concerne plus le risque de contact entre un individu malade et un sain que le risque d'ingestion de mycobactéries lors de l'abreuvement. De plus, lors d'agrainages à postes fixes, il est très fréquent que les points d'eaux, passages obligés pour les animaux, soient également des points d'agrainages, exacerbant ainsi le risque de transmission de la tuberculose à ces endroits.

#### 4.2.3 Gestion des déchets d'origine animale

Les carcasses d'animaux infectés représentent un risque de contamination important pour les espèces nécrophages. La gestion des viscères des animaux tués est importante, cependant les bacs d'équarrissages sont peu fréquents, surtout dans les forêts privées et bien souvent ces viscères sont alors jetés directement en forêt. La mise à disposition des chasseurs de bacs d'équarrissage permettrait donc une meilleure gestion des viscères.

*M. bovis*, mycobactérie responsable de la tuberculose bovine est également susceptible d'infecter une multitude d'autres espèces à travers le monde. Lors d'infection par *M. bovis*, la dissémination de la mycobactérie est à l'origine d'une atteinte chronique multi systémique permettant dans certains cas une excrétion majeure et par de multiples voies possibles. Dans

ces conditions, une contamination importante de l'environnement est possible permettant une transmission aussi bien directe qu'indirecte de *M. bovis*.

En France, outre un cheptel bovin important, un certain nombre d'espèces sauvages sont présentes et leur réceptivité à *M. bovis* a été décrite dans d'autres pays du monde. Le rôle de chaque espèce est différent vis à vis de *M. bovis* et nécessite d'être identifié. La France n'est donc pas à l'abri d'une extension des cas d'infection à *M. bovis* à sa faune sauvage résidente et une surveillance doit être mise en place sur les espèces les plus à mêmes d'héberger *M. bovis*.

## IV. Risques pour la France

### 1. Les différents rôles épidémiologiques des espèces

#### 1.1 Espèce réservoir

Un réservoir est une entité assurant dans les conditions naturelles la conservation d'un agent pathogène biologique, considéré en tant qu'espèce, et sa mise à disposition aux sujets réceptifs. Cette entité peut être une ou plusieurs espèces, ou bien le milieu extérieur (réservoir hydro-tellurique). Concernant la tuberculose il est admis que le réservoir naturel et historique est le bovin, cependant, il a été décrit à travers le monde que d'autres espèces peuvent également jouer le rôle de réservoir (Palmer, 2013).

#### 1.2 Espèce non réservoir

Une espèce non réservoir est une entité ne permettant pas d'assurer sur le long terme la conservation d'un agent pathogène biologique. Au sein de ce groupe on distingue les hôtes transmetteurs des culs de sac épidémiologiques.

##### 1.2.1 Hôte transmetteur ou de liaison

En présence d'un réservoir, les hôtes sont susceptibles de transmettre l'agent pathogène biologique, mais en cas de disparition du réservoir ils sont incapables d'entretenir sur une période durable la maladie.

##### 1.2.2 Cul de sac épidémiologique

Une espèce considérée comme un cul de sac épidémiologique est susceptible d'être infectée par l'agent pathogène en question, mais elle est incapable de la transmettre à d'autres individus.

### 1.3 Outils épidémiologiques permettant d'évaluer le rôle de chaque espèce

Déterminer si une espèce peut être considérée comme un réservoir de tuberculose bovine n'est pas une chose aisée en soi (Payne *et al.*, 2014). Cela nécessite l'évaluation de deux paramètres épidémiologiques essentiels :

- **la taille critique de la population (CCS pour *critical community size*)**: c'est la taille minimale d'une population fermée à partir de laquelle un agent pathogène peut persister indéfiniment. En dessous de cette valeur seuil, l'agent pathogène ne peut persister durablement et le nombre d'animaux infectés va inexorablement diminuer, l'espèce en question ne constitue pas un réservoir (Palmer, 2013) ;

- **le taux de reproduction de base (d'une maladie)  $R_0$**  : c'est le nombre moyen de cas (ou de foyers) secondaires provoqués par un sujet (ou un élevage) atteint d'une maladie transmissible au sein d'une population entièrement réceptive. On peut déterminer un  $R_0$  intra-espèce (noté  $R_{0\ 2-2}$ ) et un  $R_0$  inter-espèce (noté  $R_{0\ 2-2}$ ). Lorsque le  $R_0$  est supérieur à 1, ce qui signifie qu'un animal infecté transmet *M. bovis* à au moins un autre animal, on peut qualifier cette espèce de réservoir (Palmer, 2013).

Ces deux paramètres sont difficiles à évaluer, surtout dans les espèces de la faune sauvage et d'autant plus lorsque plusieurs espèces sont impliquées. Les valeurs de  $R_0$  et CCS ne sont pas forcément identiques sur tout le domaine étudié. Une certaine hétérogénéité de ces deux paramètres est possiblement observée, ceci peut être dû à des habitats préférentiels, à la disponibilité de l'aliment ou de l'eau, ou à l'intervention de l'homme (parcs, routes, agrainage...).

Ces deux paramètres dépendent de multiples facteurs qui peuvent être regroupés en trois catégories (Palmer, 2013):

- la prévalence,
- la pathologie induite par *M. bovis*,
- l'écologie et le comportement de chaque espèce.

Le terme de prévalence comprend le pourcentage d'animaux infectés mais également leur localisation spatiale et temporelle. Comme pour le  $R_0$  et le CCS, une hétérogénéité du taux de prévalence peut être observée avec la présence de foyers où la prévalence est élevée. Une telle observation est un indice témoignant que localement le  $R_0$  ou le CCS peuvent être plus importants qu'ailleurs et dépasser les valeurs seuils (Miller et Kaneene, 2006).

La pathologie induite par *M. bovis* définit l'évolution de la maladie, les voies d'excrétion et ainsi les capacités d'un individu infecté à transmettre *M. bovis* à d'autres individus. La pathogénicité influe donc sur la valeur de  $R_0$ . Selon la sévérité des lésions engendrées par *M. bovis* le taux de mortalité peut varier influençant à la fois la CCS mais aussi le  $R_0$  si l'on tient compte du caractère contagieux des carcasses infectées (Palmer, 2013).

L'écologie et le comportement d'un individu sain entre en contact directement avec un individu infectés ou avec ses sécrétions. Des comportements tels que la

vie en communauté avec une organisation sociale structurée, l'intervention de l'homme en agrainant à poste fixe favorisent les contacts proches entre individus. Ainsi la transmission de *M. bovis* est favorisée et le  $R_0$  est plus élevé (Renwick *et al.*, 2007).

Le tableau 4 résume l'influence des trois facteurs développés ci dessus sur le CCS et le  $R_0$ .

**Tableau 4** : Relation entre les caractéristiques de l'agent pathogène, de la maladie et des différents hôtes avec les concepts épidémiologiques de taux de reproduction de base ( $R_0$ ) et la taille critique de la population (Palmer, 2013)

Caractéristiques du pathogène ou de la maladie	Définition	Effet sur le $R_0$ et le CCS
<b>Prévalence</b>	Nombre ou densité d'animaux infectés dans une population donnée	Une prévalence élevée est associée avec un $R_0 \geq 1$ ou un CCS au dessus du niveau de seuil
<b>Pathologie induite par <i>Mycobacterium bovis</i></b>	Nature et localisation des lésions	La pathologie conditionne le potentiel d'excrétion. Les lésions généralisées et nécrotiques augmentent la transmission et $R_0$ . La sévérité de la maladie affecte le taux de mortalité et ainsi diminue la CCS.
<b>Écologie et comportement de l'hôte</b>	Traits comportementaux ou écologiques affectant la transmission de la maladie	L'agrèinage à poste fixe entraîne une agrégation spatiale et augmente la CCS et $R_0$ . Les comportements et autres facteurs écologiques conduisant les animaux à se regrouper augmentent la CCS et $R_0$ .

Ces différents outils épidémiologiques permettent de mieux comprendre le rôle joué par les différentes espèces susceptibles d'être infectés par *M. bovis*. Parmi toutes les espèces sensibles, seules les espèces sauvages présentes en France seront abordées.

## 2. Le sanglier (*Sus scrofa*)

Le sanglier est une espèce cosmopolite, présente en Europe, en Asie et en Océanie. Des cas de tuberculose dus à *M. bovis* ont été décrits dans de nombreuses régions à travers le monde mais selon les régions, le sanglier n'a pas toujours le même rôle dans l'épidémiologie de la tuberculose à *M. bovis*.

Dans le nord de l'Australie, jusqu'à 80 % des sangliers étaient infectés par *M. bovis* dans certaines régions. Toutefois la plupart des animaux présentaient des lésions restreintes aux nœuds lymphatiques mandibulaires et très peu de cas de tuberculose généralisée (6,7 %), notamment au niveau des poumons étaient décrits (Corner *et al.*, 1981). De telles lésions laissaient supposer un potentiel d'excrétion assez bas et compatible avec un  $R_0 < 1$  malgré le

taux de prévalence élevé. En Australie, le sanglier ne semblait pas être un réservoir de tuberculose mais plutôt un cul de sac épidémiologique ou un hôte de liaison. Cette hypothèse a été confirmée par la forte diminution de la prévalence chez le sanglier (0,25 % en 1992 contre 19 % en 1981) après l'élimination de la tuberculose au sein des deux espèces considérées comme réservoir : le bovin et le buffle d'eau (*Bubalus bubalis*) (Corner *et al.*, 1981 ; McInerney *et al.*, 1995).

En Espagne des taux de prévalence importants (jusqu'à 100 % dans certains parcs) ont également été observés chez le sanglier principalement dans les régions du centre et du sud du pays, où la pratique de la chasse (*montería*) représente une activité économique importante (Gortazar *et al.*, 2003 ; Vicente *et al.*, 2006). Comme en Australie, les nœuds lymphatiques les plus souvent touchés sont les nœuds lymphatiques mandibulaires. Par contre, les cas de tuberculose généralisée sont beaucoup plus fréquents (plus de 50 % des cas) et affectent essentiellement les jeunes animaux (Martín-Hernando *et al.*, 2007). Des lésions pulmonaires sont présentes chez 38 % des sangliers infectés par *M. bovis* (Vicente *et al.*, 2006). La sévérité des lésions suggère un potentiel d'excrétion majeur pour le sanglier.

Dans certaines régions, la densité dépasse souvent 16 sangliers / km<sup>2</sup>, dans certains parcs on peut même atteindre par endroit de 30 à 100 sangliers / km<sup>2</sup> (Gortázar *et al.*, 2006). En plus des densités élevées, localement, une agrégation des animaux a lieu au niveau des points d'eau et d'agrainage.

L'ensemble de ces facteurs (prévalence, densité, excrétion importante) contribue à un CCS et un R<sub>0</sub> élevés, au dessus du niveau de seuil suggérant que le sanglier peut être considéré comme un réservoir à *M. bovis* (Palmer, 2013). Cette hypothèse est confortée par l'observation dans certaines régions que même en l'absence de bovins et de cerfs, le sanglier est capable d'entretenir la tuberculose (Vicente *et al.*, 2006).

En dehors des parcs, des taux de prévalence élevés peuvent également être observés, c'est notamment le cas dans le parc national de Doñana situé en Espagne, dans la région de Huelva. Dans ce parc la pratique de la chasse commerciale n'est pas réalisée et l'intervention de l'homme est très limitée et pourtant 52,4 % des sangliers sont infectés (Gortázar *et al.*, 2008). Cette observation suggère que l'agrégation naturelle provoquée par le nombre limité de points d'eau représente un risque plus important que la densité dans l'épidémiologie de la tuberculose (Gortázar *et al.*, 2008).

De nombreux foyers de tuberculose à *M. bovis* chez le sanglier ont été découverts à travers le monde, mais l'importance du rôle joué par le sanglier dans l'épidémiologie de la tuberculose est très variable. Bien que sa réceptivité semble constante, lui conférant un rôle de sentinelle épidémiologique à travers le monde (Afssa, 2009). Il peut se comporter comme un hôte de liaison voire un cul de sac épidémiologique, mais également comme un vrai réservoir. Une telle différence peut paraître surprenante et son origine reste assez floue, est ce du à des conditions environnementales différentes, à l'intervention de l'homme, à des souches de *M. bovis* plus virulentes ou à une sensibilité génétique plus importante ( Acevedo-Whitehouse *et al.*, 2005 ; Vicente *et al.*, 2006 ; Gortázar *et al.*, 2008)?

### 3. Le cerf

Des cas de tuberculose sont décrits chez différentes espèces de cervidés dans le monde. Les espèces touchées sont le cerf élaphe (*Cervus elaphus*), le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*), le wapiti (*Cervus canadensis*), le daim (*Dama dama*) et le cerf Sika (*Cervus nippon*).

Aux Etats-Unis, dans le nord de l'état du Michigan, un premier cas isolé de tuberculose à *M. bovis* a été découvert en 1975 sur un cerf de Virginie mais c'est en 1994 que l'existence d'un foyer de tuberculose dans la population de cervidés a été mis en évidence (Schmitt *et al.*, 1997).

Dans cette région, la pratique intensive de la chasse et l'affouragement ont permis à la population locale de cervidés d'atteindre une densité de 31 cervidés / km<sup>2</sup> contre 5 cervidés / km<sup>2</sup> ailleurs. Dans de telles conditions, les seuils de CCS et R<sub>0</sub> ont été franchis et un réservoir de tuberculose à *M. bovis* s'est constitué au sein de la population de cerfs de Virginie (O'Brien *et al.*, 2006 ; Palmer, 2013).

La situation dans l'état voisin du Minnesota permet une comparaison intéressante sur le danger représenté par les fortes densités d'animaux sauvages ainsi que de l'affouragement. Dans cet état, très proche du Michigan aussi bien sur le plan géographique, climatique et de l'élevage, des cas de tuberculose ont également été observés chez le cerf de Virginie mais dans des proportions nettement moins importantes (prévalence d'environ 0,2 %) alors que les mêmes souches de *M. bovis* sont présentes (Miller et Kaneene, 2006 ; Carstensen et DonCarlos, 2011). Dans cet état les densités de cervidés étaient nettement plus faibles que dans le nord du Michigan et ont été diminuées suite à la découverte de ces cas de tuberculose. L'affouragement quant à lui restait raisonnable. De telles conditions ont maintenu un R<sub>0</sub> et un CCS en dessous des valeurs seuils empêchant la constitution d'un réservoir de tuberculose en plus du réservoir bovin. Suite à l'élimination progressive de la tuberculose dans les cheptels bovins, aucun cas de tuberculose n'a été identifié chez le bovin ou chez le cerf de Virginie depuis 2009 (Palmer, 2013).

En Nouvelle-Zélande, *M. bovis* a été isolé dans 14 espèces différentes de la faune sauvage mais le possum (*Trichosurus vulpecula*) est considéré comme le réservoir sauvage principal de la tuberculose (Mackintosh *et al.*, 2004). Toutefois, des taux de prévalence élevés ont été constatés dans certaines populations de cerfs élaphe, pouvant atteindre 37 %. Des cas sont également décrits chez le daim et le cerf Sika. La valeur seuil de densité compatible avec la constitution d'un réservoir de tuberculose dans une population de cerf élaphe a été évalué à 15 animaux / km<sup>2</sup> et cette valeur est fréquemment atteinte en Nouvelle Zélande. Dans les zones de forte densité les conditions sont réunies pour que le cerf constitue un réservoir de tuberculose mais dans les autres endroits il serait plutôt un hôte de liaison voir un cul de sac épidémiologique. La découverte de foyers de tuberculose chez le cerf élaphe dans des régions où les opossums n'étaient pas infectés tend à confirmer l'hypothèse que le cerf élaphe est susceptible de constituer un réservoir de tuberculose sous certaines conditions (Lugton *et al.*, 1998).

Dans le centre et le sud de l'Espagne, d'importants foyers à *M. bovis* sont présents, affectant le sanglier comme il est décrit plus haut, mais également le cerf et le daim. Tandis que le rôle de réservoir à *M. bovis* du sanglier dans la péninsule ibérique fait l'unanimité, le rôle du cerf est sujet à controverse. Bien que la prévalence de la tuberculose et les densités de cervidés soient importantes dans beaucoup de régions d'Espagne suggérant la capacité du cerf à entretenir durablement *M. bovis*, son rôle reste toutefois assez obscur (Palmer, 2013 ; Vicente *et al.*, 2007). La présence systématique de sangliers, espèce réservoir à *M. bovis* clairement établie, à proximité des populations de cerf ne permet pas d'évaluer l'évolution de la tuberculose en la seule présence de cervidés. Le couple sanglier-cerf peut par contre être considéré comme un réservoir commun mais pour le cerf plusieurs arguments sont en faveur de l'hypothèse qu'il ne soit pas un réservoir de *M. bovis*. Tout d'abord la prévalence de la tuberculose est toujours supérieure chez le sanglier que chez le cerf, de plus pour que le cerf constitue un réservoir une des conditions est une transmission intra-espèce importante. Or au niveau des points d'agrégations des cervidés et des sangliers, la transmission intra-espèce chez le cerf n'est pas évidente alors que pour la transmission inter espèce de solides preuves sont décrites (Vicente *et al.*, 2007). La transmission inter espèce a lieu plutôt dans le sens du sanglier vers le cerf, sauf pour la consommation de carcasses qui constitue une contamination du cerf vers le sanglier. Ces arguments suggèrent qu'un cerf infecté ne serait que difficilement capable de transmettre *M. bovis* à plus d'un cervidé et qu'il ne constituerait donc pas un réservoir. Le rôle exact du cerf élaphe n'est pas clairement établi dans l'épidémiologie de *M. bovis* en Espagne et fait toujours débat. Selon les auteurs, le cerf pourrait se comporter comme un réservoir ou bien comme un hôte de transmission. La présence concomitante de sanglier, réservoir à *M. bovis* confirmé, au contact des populations de cervidés complique l'évaluation du rôle exact des cerfs par rapport à *M. bovis*.

Ainsi, en cas de forte densité, qui peut être exacerbée par une agrégation artificielle au niveau des points d'eau et d'affouragement, les cervidés, quelque soit l'espèce sont susceptibles de constituer un réservoir sauvage de tuberculose à *M. bovis*.

#### **4. Le blaireau (*Meles meles*)**

Le Royaume-Uni et l'Irlande sont les deux principaux touchés par la tuberculose chez le blaireau. *M. bovis* a été isolé pour la première fois chez un blaireau en 1974 dans la région de *Gloucestershire* dans l'ouest de l'Angleterre. L'intégralité de l'Irlande est touchée par ces foyers de tuberculose chez le blaireau et en Angleterre c'est principalement le sud ouest du pays qui est touché (Gallagher *et al.*, 1976 ; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000). La prévalence est variable entre 1,6 et 37,2 % (moyenne de 16,6 %) selon les régions (Bourne *et al.*, 2007). Les blaireaux sont réceptifs à l'infection par *M. bovis* mais paraissent assez peu sensibles, ils développent des lésions dans 20 à 40 % des cas. (Corner, 2006 ; Jenkins *et al.*, 2008). Les poumons constituent le principal organe atteint après les nœuds lymphatiques. Des cas de tuberculose sont également décrits mais ils sont assez rares (Murphy *et al.*, 2010). Par contre les animaux atteints de tuberculose généralisée joue un rôle important dans la dispersion de *M. bovis*, ces animaux sont en effet susceptibles d'excréter *M. bovis*

massivement par plusieurs voies différentes simultanément, on les qualifie d'individus « supers excréteurs ». Les animaux moins sévèrement atteints sont probablement également excréteurs de *M. bovis* mais dans des proportions nettement plus faibles comme c'est le cas chez les bovins (Anses, 2011).

En Irlande et surtout au Royaume Uni, le blaireau figure parmi les espèces protégées. Cela constitue une des raisons pour laquelle les densités de blaireaux ont beaucoup augmentés ces trente dernières années, atteignant de 20 à 50 blaireaux au km<sup>2</sup> dans les zones les plus denses dans le sud ouest de l'Angleterre. En Irlande par contre la densité de population de blaireaux est plus faible, de l'ordre de deux à trois individus / km<sup>2</sup>.

Le blaireau est une espèce qui vit dans de petits groupes très hiérarchisés, dans des terriers où l'espace confiné favorise les contacts proches. De plus les individus en fin d'évolution ont une désinhibition vis à vis d'autres animaux tels que les bovins ou les cervidés favorisant une transmission inter-espèce (Anses, 2011).

Dans ces conditions, en particulier les fortes densités rencontrées dans le sud ouest de l'Angleterre sont à l'origine d'un R<sub>0</sub> et un CCS supérieurs aux valeurs seuils à l'origine de la constitution d'un réservoir de tuberculose chez le blaireau dans ces deux pays (Anses, 2011).

## **5. Le chevreuil (*Capreolus capreolus*)**

Le chevreuil est une espèce très largement répandue dans le monde et dont les densités ont nettement augmenté ces dernières années. Etant donné l'existence de cas d'infections à *M. bovis* chez les cervidés, l'exposition du chevreuil à cet agent pathogène a également été investiguée dans différents pays d'Europe. Les résultats des différentes études menées en Angleterre, en Allemagne, en Suisse, en Espagne et en Italie montre des cas très sporadiques d'infection à *M. bovis* chez le chevreuil. Dans le sud de l'Angleterre, 885 chevreuils ont été analysés et la prévalence observée était d'environ 1 %. Malgré quelques cas sporadiques d'infection à *M. bovis* en Europe, les différentes études menées semblent toute conclure que le chevreuil joue un rôle mineur dans l'épidémiologie de la tuberculose et est considéré comme un cul de sac épidémiologique (Balserio *et al.*, 2008).

## **6. La situation en France**

Le sanglier, le cerf et le blaireau étant trois espèces présentes en France et réceptives à *M. bovis*, l'existence de foyers d'infection à *M. bovis* dans la faune sauvage semble tout à fait envisageable. Différents plans de surveillance ont été mis en place successivement et renforcés suite à la découverte des premiers cas d'infection à *M. bovis* dans la faune sauvage française.

### **6.1 Modalités de surveillance**

Suite à la découverte de cas d'infection à *M. bovis* au sein de la faune sauvage des mesures de surveillance ont été mises en place dès 2001 dans les régions touchées. Ces

mesures reposaient essentiellement sur une surveillance active à partir de prélèvements réalisés sur un nombre fixé d'animaux tués à la chasse (Hars *et al.*, 2012).

En France, il existe un réseau de surveillance sanitaire des animaux sauvages dénommé SAGIR qui vise à détecter précocement l'apparition de maladies émergentes et à surveiller l'existence d'agents pathogènes partagés par la faune sauvage et la faune domestique. Ce réseau, géré par l'ONCFS et les fédérations des chasseurs, collecte les cadavres d'animaux retrouvés morts et les achemine au laboratoire vétérinaire en charge de diagnostiquer la cause de la mort.

La surveillance de l'émergence de cas d'infection par *M. bovis* au sein de la faune sauvage est donc une des missions de ce réseau.

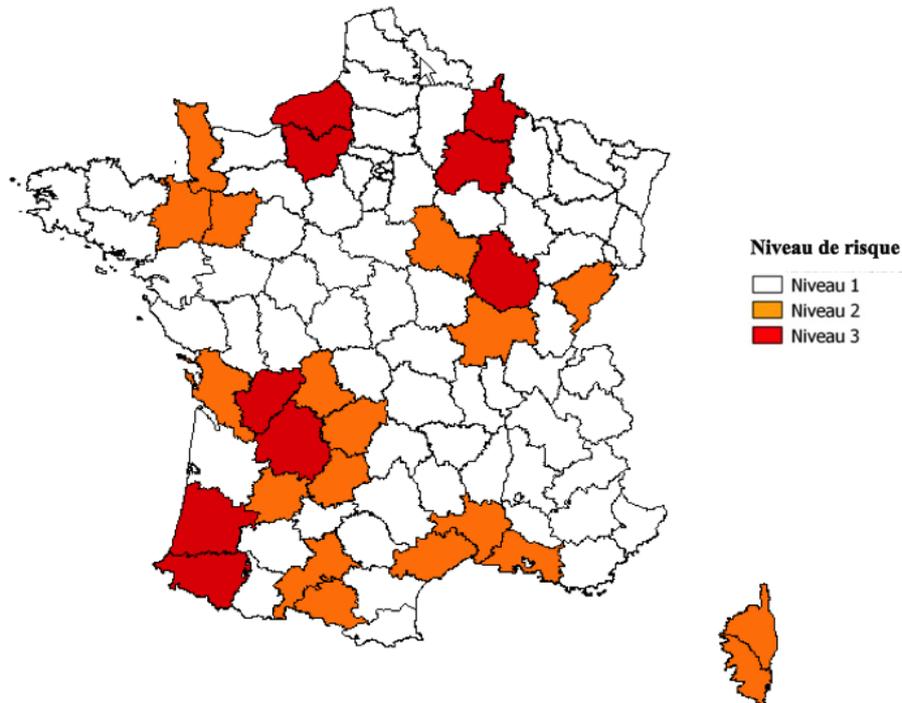
Au vu de l'augmentation du nombre de foyers d'infection à *M. bovis*, un dispositif dédié à la surveillance de la tuberculose, Sylvatub, a été mis en place dans le courant de la saison de chasse 2011-2012 dans le but notamment d'uniformiser sur le plan national les mesures de lutte. Ce réseau organise la surveillance de la tuberculose chez la faune sauvage dans toute la France avec différents niveaux de surveillance. Parmi tous les partenaires impliqués dans le réseau Sylvatub on retrouve, la FNC et les FDC, l'ONCFS, les LDAV, l'ANSES, les DDcsPP et l'ensemble des chasseurs.

Le risque de découvrir la présence ou persistance de tuberculose au sein de la faune sauvage est évalué pour chaque département sur un certain nombre de critères présentés dans le tableau 5. La figure 7 illustre le niveau de risque pour chaque département français pour la saison 2013-2014.

**Tableau 5:** Critères d'appartenance aux différents niveaux de risque (FNC 2013)

Niveaux de risque estimés		Eléments de l'analyse de risque
<b>Niveau 3</b>	Elevé	- Prévalence élevée de tuberculose dans les foyers bovins - Présence animaux sauvages infectés (voire existence d'un réservoir primaire dans la faune sauvage)
<b>Niveau 2</b>	Intermédiaire	- Détection régulière ou augmentation soudaine d'incidence de foyers bovins - Présence d'animaux sauvages infectés - Proximité géographique avec des zones de niveau 3
<b>Niveau 1</b>	Faible	Tous les autres départements

**Figure 7.** Niveau de risque dans l'ensemble des départements français pour la saison 2013-2014 (FNC 2013)



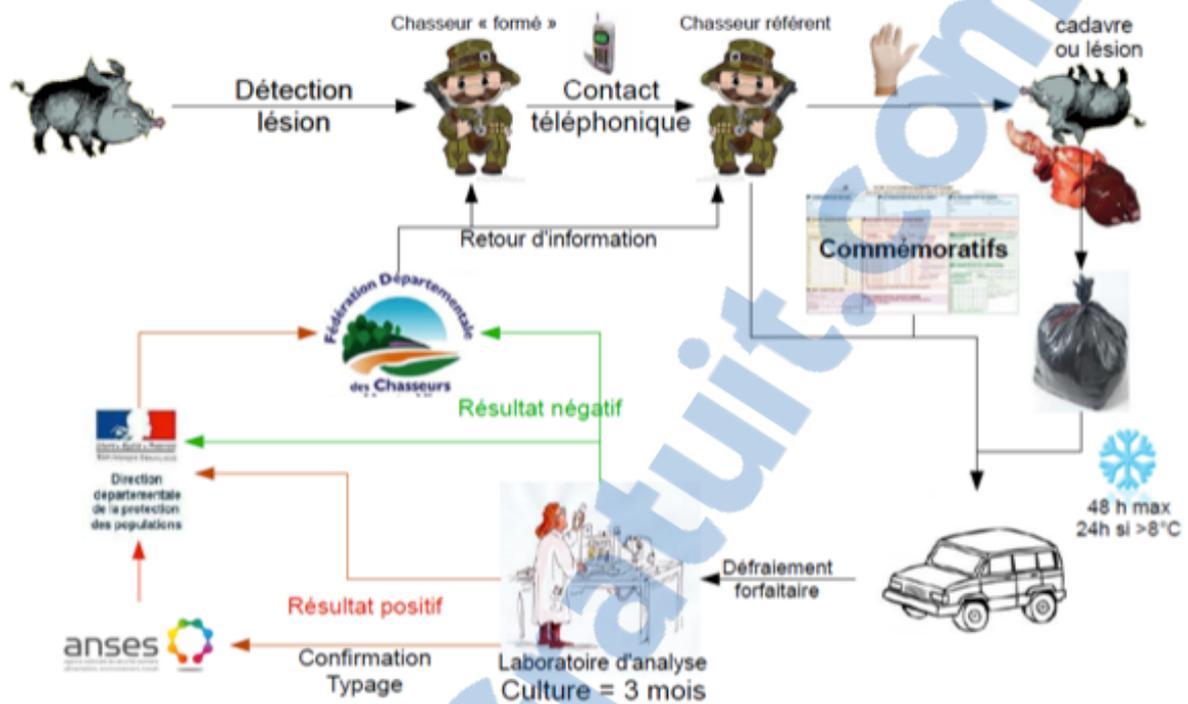
Selon le niveau de risque, un protocole de surveillance est défini. Pour les départements en niveau 1, la surveillance repose essentiellement sur les chasseurs, chargés d'examiner les carcasses des animaux tués à la chasse (examen initial de la venaison) et sur le fonctionnement normal du réseau SAGIR. En cas de lésion suspecte sur un animal tué à la chasse ou retrouvé mort, les chasseurs contactent une personne de la FDC ou de l'ONCFS qui s'occupe de la prise en charge de la carcasse et d'acheminer les prélèvements pour les analyses de laboratoire.

Les frais d'analyse sont pris en charge.

La FDC joue également un rôle essentiel dans la formation des chasseurs à l'examen des carcasses et à la recherche de lésions évocatrices de tuberculose.

Pour les départements en niveau 2, la surveillance repose toujours sur les chasseurs mais une indemnisation est prévue pour chaque animal prélevé et analysé afin d'inciter les acteurs du réseau à envoyer des prélèvements. Le schéma de la figure 8 illustre le rôle de l'ensemble des acteurs intervenant dans le cadre de la surveillance de la tuberculose.

**Figure 8.** Rôle et interactions entre les différents partenaires intervenants dans le réseau Sylvatub (Hars, Tesniere 2013)



Des campagnes de prélèvements de blaireaux sont également organisées autour des foyers bovins détectés afin de surveiller l'exposition du blaireau à l'infection et de mieux connaître son rôle épidémiologique. Par ailleurs, un renforcement du réseau SAGIR est appliqué dans tout le département afin de collecter un maximum de cadavres de grand gibier et les cadavres de blaireaux trouvés morts au bord de routes (de dernier point étant en grande partie à la charge du service départemental de l'ONCFS).

Enfin, pour les départements en niveau 3, où le risque est le plus élevé, en plus des mesures communes aux niveaux 1 et 2 s'ajoute une surveillance active avec la réalisation de prélèvements spécifiques (nœuds lymphatiques, lésions organiques) sur un échantillon défini d'animaux. Les espèces concernées par la surveillance active peuvent être : le blaireau, le sanglier, le cerf.

Dans chaque département de niveau 3, un nombre d'animaux à examiner est fixé pour chaque espèce. Pour le grand gibier, les animaux examinés sont essentiellement tués à la chasse, pour les blaireaux et renards ces animaux sont plutôt capturés à l'aide de pièges. Le tableau 6 résume les différentes mesures de surveillance mises en œuvre selon le niveau de risque.

**Tableau 6:** Volets de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage à appliquer en fonction du niveau de risque estimé (FNC 2013)

Type de surveillance	Modalités de surveillance	Niveau	Niveau	Niveau
		1	2	3
Événementielle	Surveillance chez les <b>cerfs, chevreuils et sangliers</b> , de lésions évocatrices de tuberculose, lors de l'examen de carcasse dans le cadre d'une pratique de chasse habituelle	X	X	X
	Surveillance chez les <b>sangliers, cerfs, chevreuils et blaireaux</b> de lésions évocatrices de tuberculose prélevés dans le cadre du réseau SAGIR (animaux morts ou mourants) dans son fonctionnement normal	X	X	X
Événementielle renforcée	Surveillance de lésions évocatrices de tuberculose chez les <b>cerfs, sangliers et blaireaux</b> prélevés dans le cadre d'un renforcement du réseau SAGIR indemnisation et frais d'analyse pris en charge jusqu'à un certain plafond)		X	X
Programmée	Surveillance active de la tuberculose chez les blaireaux piégés en zone infectée		X	X
	Surveillance active de la tuberculose sur les <b>cerfs et les sangliers</b> tués à la chasse			X

## 6.2 Les espèces touchées

En France, à l'heure actuelle *M. bovis* a été isolé chez cinq espèces sauvages : le cerf élaphe (*Cervus elaphus*), le sanglier (*Sus scrofa*), le blaireau (*Meles meles*), le chevreuil (*Capreolus capreolus*) et le renard (*Vulpes vulpes*). Les trois premières espèces citées sont connues dans le monde pour leur rôle important dans l'épidémiologie de la tuberculose, les deux dernières semblent avoir un rôle mineur. La densité des animaux sauvages est difficile à évaluer mais d'après les différents indicateurs disponibles il semble que la densité de ces cinq espèces a très fortement augmenté ces dernières années (Anses, 2011).

## 6.3 Localisation des foyers

Depuis 2001 et la découverte du premier cas d'infection à *M. bovis* chez des cerfs en forêt de Brotonne, des cas sporadiques ont été découverts dans plusieurs départements français. La plupart des foyers découverts coïncident avec les zones où une recrudescence des cas de tuberculose chez les bovins est observée. Les souches isolées dans la faune sauvage sont les mêmes que celles présentes dans les foyers bovins situés à proximité, suggérant un

lien épidémiologique entre ces espèces. Les régions touchées sont des territoires où l'élevage extensif est majoritaire avec de nombreux élevages allaitants (race charolaise en Bourgogne, limousine en Dordogne) et où les animaux passent la majorité de l'année sur des pâtures parfois à proximité de massifs boisés. Le morcellement des parcelles est également important, favorisant les contacts entre bovins d'exploitations différentes. Un tel environnement est très favorable à la transmission inter et intra-espèce de *M. bovis*.

### 6.3.1 Cas de la forêt de Brotonne

Cf. infra, partie contribution personnelle.

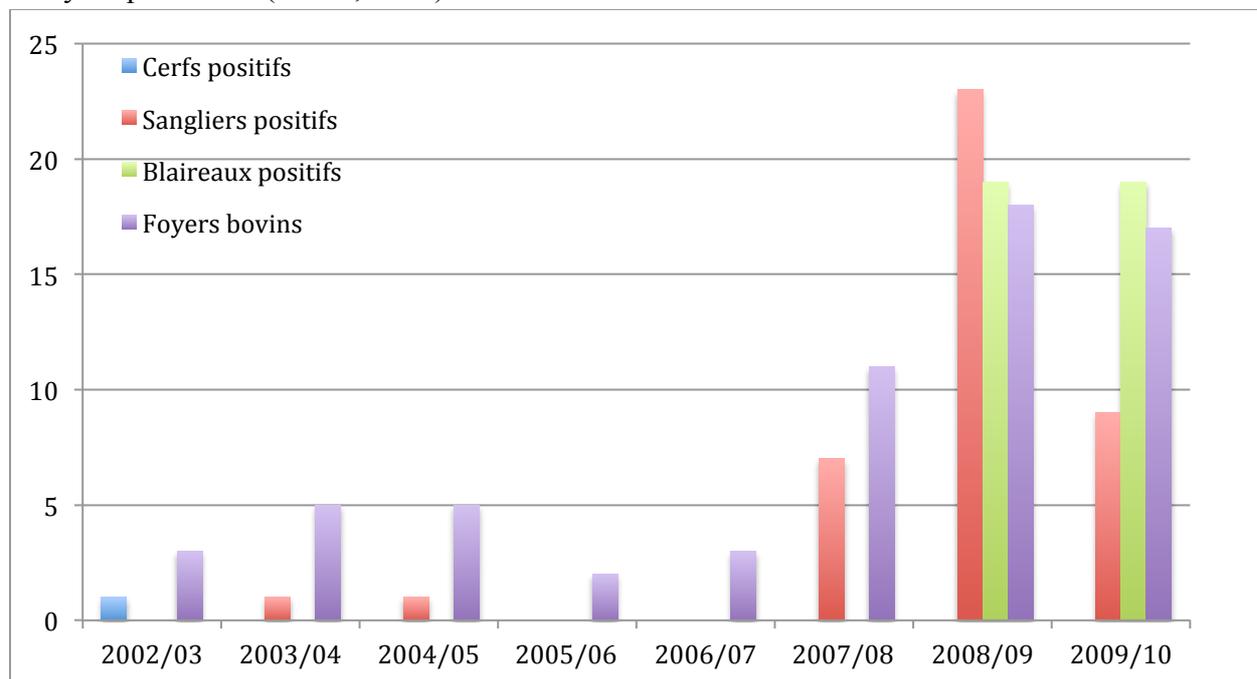
### 6.3.2 En Bourgogne

Dans le département de la Côte d'Or on assiste à une recrudescence des cas de tuberculose bovine et des cas d'infection à *M. bovis* ont été identifiés dans la faune sauvage sur les secteurs de Pouilly-en-Auxois depuis 2002 et de Vénarey-Vitteaux depuis 2003. *M. bovis* a été isolé en majorité chez des sangliers (prévalence de 16,5 % dans la zone de Pouilly-en-Auxois contre 6,4 % à Vénarey-Vitteaux lors de la saison de chasse 2008-2009) dont certains individus, y compris des jeunes animaux, présentaient des formes évolutives de tuberculose laissant supposer une excrétion importante de *M. bovis*. La prévalence ainsi que la densité de sangliers dans la région la plus touchée (Pouilly-en-Auxois) sont statistiquement différentes de celles de Vénarey-Vitteaux (Anses, 2011).

*M. bovis* a également été isolé sur des blaireaux (prévalence stable de l'ordre de 6 %) ainsi que chez cinq cerfs et deux renards. Les souches isolées sont identiques à celles identifiées dans les foyers bovins à proximité suggérant un lien épidémiologique entre les différents foyers.

Bien que la situation se soit aggravée depuis 2002, les différentes espèces touchées ne semblent pour le moment pas constituer un réservoir de tuberculose et la présence de *M. bovis* dans ces espèces dépend encore de la persistance de foyers de tuberculose bovine à proximité mais elles sont tout de même susceptibles de recontaminer épisodiquement les troupeaux bovins à proximité (Payne *et al.*, 2014). Des mesures visant d'une part à protéger les cheptels bovins et d'autre part à limiter le risque de constitution d'un réservoir sauvage de tuberculose ont donc été prises. La figure 9 et le tableau 7 illustre l'évolution de la situation en Côte d'Or depuis 2002.

**Figure 9.** Evolution des cas de tuberculose à *M. bovis* détectés chez les mammifères sauvages et dans les cheptels bovins en Côte-d’Or entre 2002 et 2010, et nombres d’animaux sauvages analysés par saison (Anses, 2011)



**Tableau 7 :** Nombre d’animaux analysés en Côte d’Or entre 2003 et 2010

**Nombre d’animaux analysés**

Cerfs	30	115	53	55	61	51	43	52
Sangliers	16	52	20	32	56	99	150	195
Blaireaux	0	20	20	19	0	4	274	300
Foyers bovin	3	5	5	2	3	11	18	17

### 6.3.3 En Dordogne et en Charente

En Dordogne, comme en Côte d’Or, une recrudescence des cas de tuberculose à *M. bovis* a été constatée dans les élevages bovins depuis 2004. Un programme de surveillance de la tuberculose chez le cerf, le sanglier et le chevreuil a été mis en place. Jusqu’en 2010, *M. bovis* n’avait jamais été isolé sur les 500 animaux analysés mais depuis un cerf prélevé était infecté par *M. bovis* et le blaireau a été intégré au programme de surveillance dans les zones infectées, ainsi 24 blaireaux sur 243 analysés en 2011 étaient infectés par *M. bovis* et certains présentaient des formes évolutives de tuberculose. Les souches isolées sont une nouvelle fois les mêmes que celles identifiées au préalable dans les foyers bovins à proximité confirmant le lien entre ces foyers (Anses, 2011).

De même en Charente, département voisin de la Dordogne, des blaireaux infectés par *M. bovis* ont été capturés au voisinage d’exploitations atteintes de tuberculose bovine.

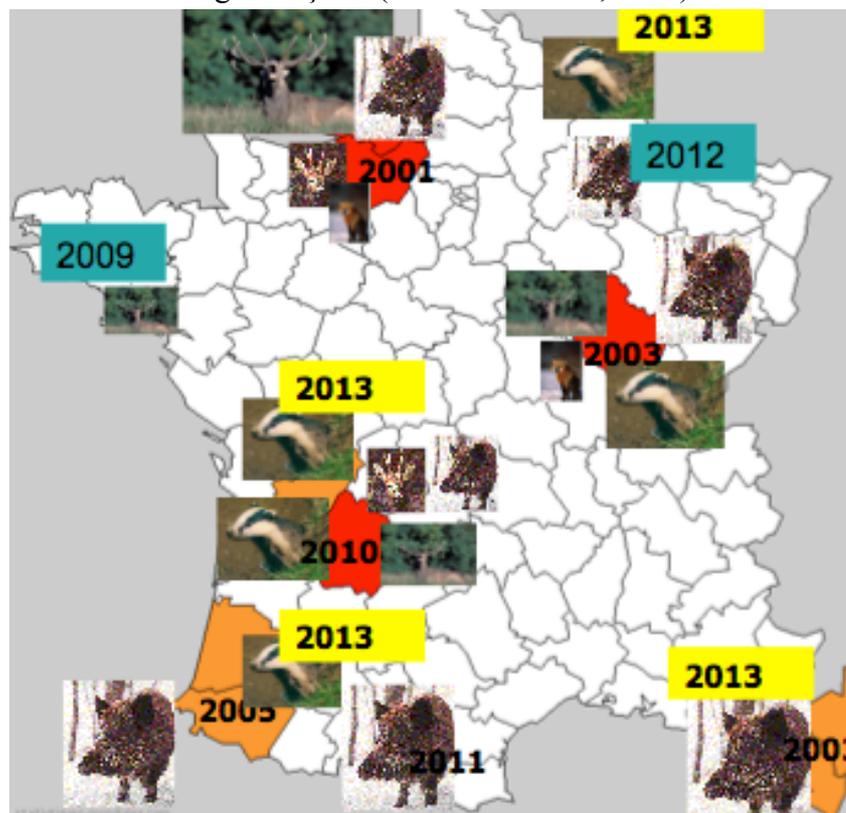
Depuis 2011, des cas de tuberculose ont été détectés sur 3 chevreuils en Dordogne, au cœur du foyer de tuberculose, alors que jusqu’à présent il était considéré que le chevreuil jouait un

rôle négligeable dans l'épidémiologie de la tuberculose. De tels résultats ne remettent pour le moment pas en question le rôle du chevreuil mais requiert une surveillance attentive (Hars et Tesniere, 2013).

#### 6.3.4 Autres régions françaises

D'autres cas sporadiques de tuberculose ont été détectés au sein de la faune sauvage dans d'autres départements français. Dans les Pyrénées-Atlantiques, quatre cas de tuberculose ont été détectés sur un total de 227 sangliers analysés depuis 2005. Les souches identifiées sont toujours les mêmes que celles découvertes dans les exploitations voisines. De même en Corse, quelques cas de tuberculose ont également été mis en évidence chez des sangliers, au total depuis 2003 9 sangliers étaient infectés par les mêmes souches que celles retrouvées dans les élevages bovins et porcins environnants. Il est à noter qu'en Corse les élevages plein-air sont fréquents, facilitant les contacts et la transmission de *M. bovis* entre animaux sauvages et domestiques (Richomme *et al.*, 2010). La figure 10 résume les différents départements où des cas de tuberculose ont été décelés sur la faune sauvage ainsi que la date d'apparition.

**Figure 10.** Localisation et date d'apparition des différents foyers de tuberculose au sein de la faune sauvage française (Hars et Tesniere, 2013)



## 6.4 Bilan

La France se situe vraisemblablement à un tournant dans sa lutte contre la tuberculose bovine, les efforts réalisés depuis des décennies afin d'assainir les troupeaux ont permis d'aboutir à des taux de prévalence très bas mais les efforts consentis sont menacés par une recrudescence des foyers de tuberculose dont une partie sont liés à l'émergence de cas sporadiques d'infection par *M. bovis* de la faune sauvage.

L'existence de foyers d'infection à *M. bovis* de la faune sauvage de diverses régions françaises laisse craindre la possibilité de constitution d'un réservoir sauvage de tuberculose. Un tel réservoir menacerait l'éradication de la tuberculose dans l'espèce bovine de part la persistance d'une source de contamination pour les cheptels indemnes. De plus, étant donné la complexité de l'éradication de la tuberculose en élevage, l'élimination de la tuberculose dans une espèce sauvage paraît encore plus difficile.

A ce jour, la forêt de Brotonne est le seul endroit en France où un réservoir sauvage de *M. bovis* a pu être mis en évidence, dans les autres régions françaises le faible nombre de cas laisse espérer que les espèces sauvages ne constituent pas, pour le moment, un réservoir même s'il est difficile de l'affirmer avec certitude. S'il n'existe pas à ce jour de réservoir « autonome » de tuberculose chez une ou plusieurs espèces sauvages, le maintien de *M. bovis* dans ces espèces dépend encore de la persistance de foyers bovins à proximité. L'élimination des derniers foyers de tuberculose bovine permettrait un assainissement progressif et naturel au sein de la faune sauvage. Toutefois, il apparaît essentiel de mettre en œuvre les mesures nécessaires afin de limiter le risque de constitution d'un réservoir sauvage ainsi que le risque de recontamination des cheptels indemnes par des animaux sauvages. Ceci, passe notamment par une diminution des effectifs d'ongulés sauvages, l'élimination des viscères et la limitation des contacts entre animaux sauvages et domestiques. Cette dernière mesure peut néanmoins s'avérer difficile à mettre en œuvre dans certaines régions dont l'aspect ressemble à une mosaïque de forêts et de prairies.

La situation en France est donc pour le moins précaire, une surveillance attentive est nécessaire autour des foyers de tuberculose bovine afin d'évaluer une éventuelle implication de la faune sauvage ainsi que dans les massifs où des cas d'infections à *M. bovis* sont décrits dans la faune sauvage. Nous avons eu la chance de pouvoir intégrer le programme de surveillance de la situation épidémiologique en forêt de Brotonne lors des saisons de chasse 2012-2013 et 2013-2014 dont le protocole et les résultats sont présentés ci dessous.

# *Etude personnelle*

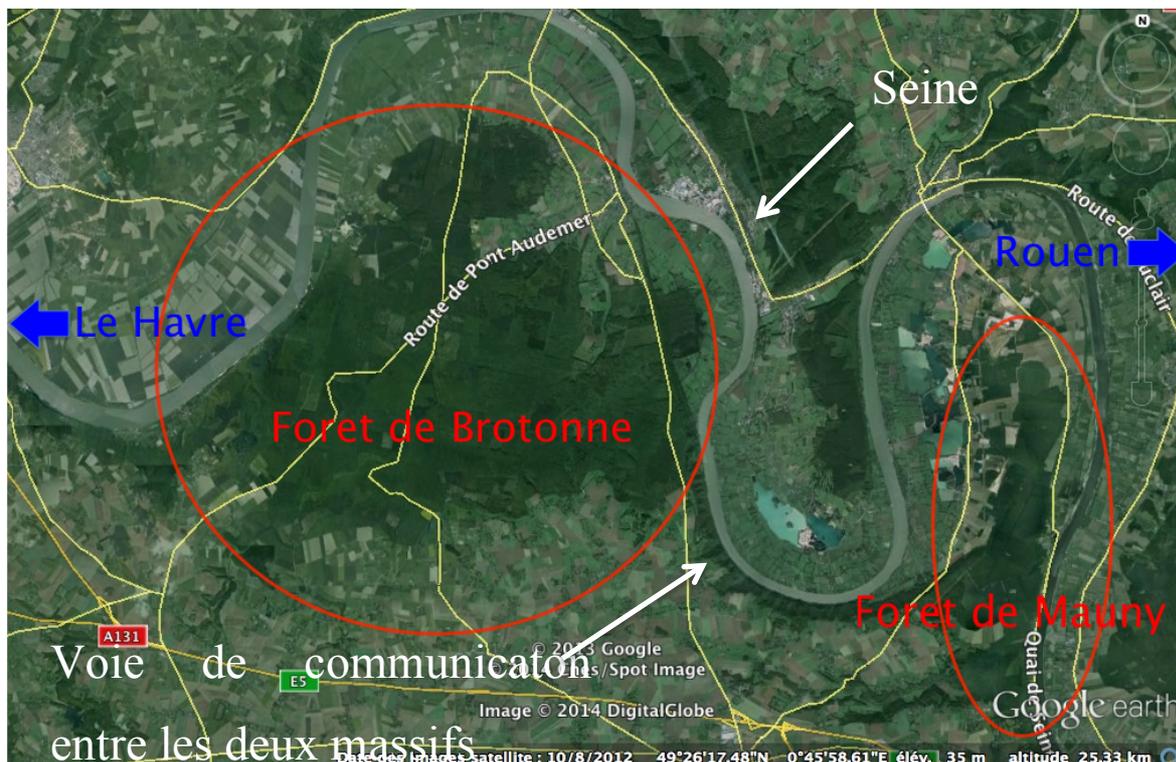


# I. Rappel de la situation épidémiologique en forêt de Brotonne (saisons de chasse 2001-2002 à 2011-2012)

## 1. Localisation de la forêt de Brotonne – Mauny

La forêt de Brotonne- Mauny est délimitée au nord par les boucles de la Seine, au sud par le tracé des autoroutes A13 et A131, à l'est et à l'ouest par leur intersection (figure 11). Cette zone inclut la forêt de Brotonne à l'ouest et la forêt de Mauny située plus à l'est. Ces deux massifs boisés sont relativement isolés l'un de l'autre mais des échanges d'ongulés sauvages sont constatés via une portion boisée le long de la Seine. La configuration géographique du massif fait qu'il peut être considéré comme une entité épidémiologique quasi-autonome. Dès lors, les populations sauvages n'ont pas (ou très peu) de relations avec celles des autres territoires boisés de la Seine Maritime et de l'Eure. Toutefois, des sangliers, voire des cerfs, sont potentiellement capables de traverser à la nage un fleuve comme la Seine. Des échanges de populations avec les forêts situées en rive droite de la Seine ne sont donc pas à exclure totalement. De tels échanges ont été observés notamment avec des animaux, principalement des sangliers, en provenance de la forêt de Jumièges situés sur la rive droite de la Seine.

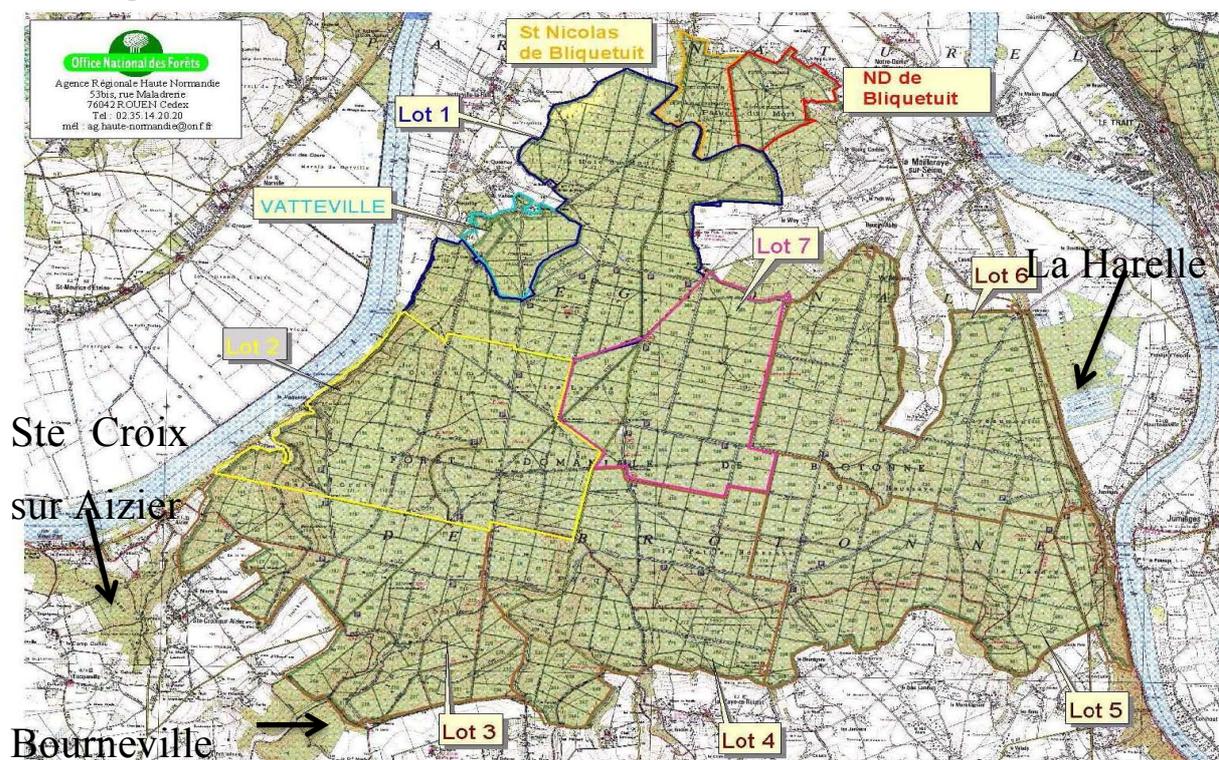
**Figure 11.** Situation géographique des forêts de Brotonne et de Mauny (Source : GoogleEarth)



Le massif forestier de Brotonne est situé pour majeure partie dans le département de Seine-Maritime (7200 ha) et pour une petite partie dans l'Eure (1000 ha). Il comprend plusieurs territoires (figure 12):

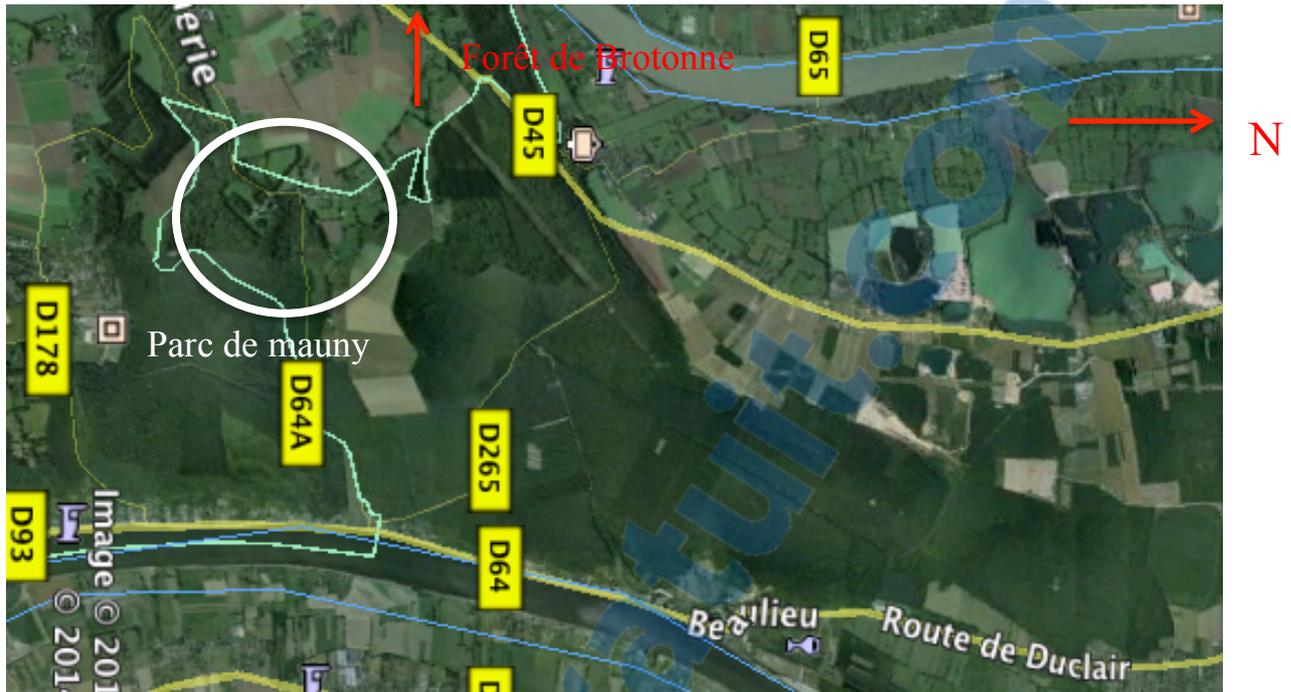
- la forêt domaniale (6718 ha) gérée par l'ONF et divisée en 7 lots de chasse détenus par quatre adjudicataires différents ;
- les forêts communales de St Nicolas de Bliquetuit, Notre-Dame de Bliquetuit et Vatteville la rue, chacune louée à un adjudicataire ;
- les forêts privées situées plutôt au sud du massif dans le département de l'Eure.

**Figure 12.** Localisation des différents lots de chasse dans la forêt de Brotonne



Le massif de Mauny est également situé à cheval sur les départements de la Seine-Maritime et de l'Eure sur environ 800 hectares. La majorité du massif est constituée de bois privés dont un parc clos correspondant au parc du château de Mauny où étaient présents jusqu'en 2013 des cervidés (cerfs et daims) en captivité mais des échanges avec les animaux sauvages vivant à l'extérieur du parc sont rapportés (figure 13).

**Figure 13.** Localisation du parc de Mauny



## **2. Evolution de la situation épidémiologique, des mesures de surveillance et de lutte entre 2001 et 2006**

En 2001, trois cervidés (une biche adulte, un cerf et un faon) présentaient des lésions abcédées localisées au niveau des poumons et/ou du foie, évocatrices de tuberculose. Des prélèvements ont été transmis au laboratoire départemental d'analyses vétérinaire de Rouen et le 20 mars 2001 la suspicion de tuberculose a été confirmée après isolement de *M. bovis* (spoligotype SB-0134- VNTR 7454) par l'AFSSA (site d'Alfort), laboratoire national de référence pour l'identification des mycobactéries. La souche isolée était la même que celle présente dans les élevages infectés en périphérie de la forêt de Brotonne ces dernières années, au total une dizaine de foyers de tuberculose bovine avaient été identifiés entre 1986 et 2001. Un tel constat était en faveur d'un lien épidémiologique entre les foyers domestiques et ce foyer sauvage de tuberculose, suggérant que pour la première fois en France un passage de *M. bovis* des bovins vers des animaux sauvages avait été mis en évidence.

Suite à la découverte des premiers cas d'infection à *M. bovis* dans la faune sauvage de la forêt de Brotonne, une enquête épidémiologique approfondie a été conduite lors de la saison de chasse 2001-2002. Les objectifs étaient d'examiner un nombre important d'animaux parmi les espèces sensibles, à savoir le cerf, le sanglier et le chevreuil, tués à la chasse. Il était prévu d'examiner et de prélever de manière aléatoire 90 animaux de chacune des trois espèces citées, sans aucune distinction de sexe, d'âge, d'éventuelles lésions ou d'un quelconque autre signe évocateur de tuberculose afin de garantir la représentativité de l'échantillon. Les résultats de l'enquête épidémiologique ont révélé des résultats d'emblée très préoccupants (prévalence apparente de 14 % chez le cerf, de 28 % chez le sanglier et nulle chez le chevreuil, tableau 29).

De tels résultats ont conduit à la mise en place immédiate d'importantes mesures de lutte afin d'endiguer la propagation de *M. bovis* au sein de la faune sauvage et domestique. Des clôtures ont été installées tout autour de la forêt afin d'empêcher, ou au moins de limiter les contacts entre animaux sauvages et domestiques. L'agrainage à poste fixe a été interdit et une augmentation des prélèvements de sangliers et de cervidés a été demandée aux chasseurs afin de diminuer les densités ainsi que les concentrations artificielles d'animaux. Des points de collectes des viscères ont été installés afin d'éviter que des viscères d'animaux tuberculeux soient jetés en forêt et soit ainsi à l'origine de la transmission aux espèces charognardes carnivores ou omnivores (renard, sanglier, blaireau...).

Lors des saisons suivantes, entre 2003 et 2005, une surveillance a été maintenue mais selon des modalités différentes. En effet les prélèvements étaient réalisés de manière occasionnelle, avec des critères de sélection tels que la présence de lésion ne garantissant donc pas la représentativité de l'échantillon. La prévalence ainsi calculée n'était pas comparable à celle de la première enquête épidémiologique et il était impossible de statuer sur l'évolution de la situation même si le tableau lésionnel observé laissait supposer une possible aggravation.

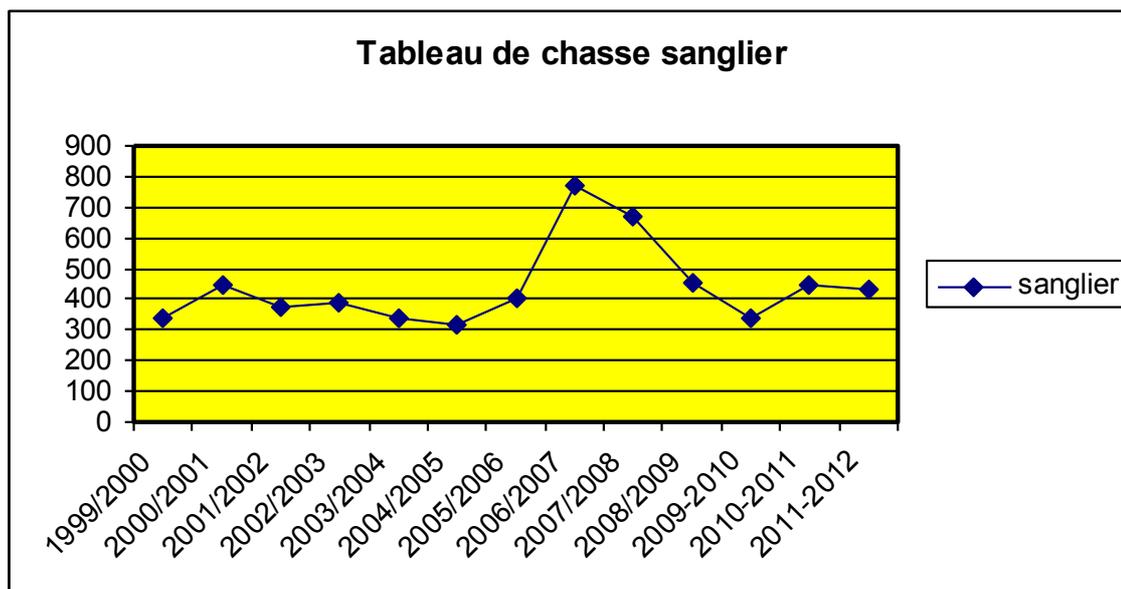
Lors de la saison 2005-2006 une nouvelle enquête épidémiologique a été réalisée, fondée sur les mêmes principes que l'enquête de 2001-2002. Les résultats ont montré que la situation s'était aggravée par rapport à la saison 2001-2002 malgré les mesures mises en œuvre et décrites ci dessus. En effet la prévalence apparente avait augmenté chez le cerf (23 %) et chez le sanglier (37 %, tableau 29). De plus le tableau lésionnel semblait s'être aggravé chez le sanglier avec la découverte de formes évolutives de tuberculose, y compris chez des jeunes animaux.

Avec la mise en place des clôtures autour de la forêt, la circulation de *M. bovis* au sein de la faune sauvage se produisait, en théorie, indépendamment de la présence ou non de foyers de tuberculose bovine à proximité. Etant donnée la prévalence et l'aggravation observées en 2005-2006, il semblait assez claire que la faune sauvage de la forêt de Brotonne était capable de maintenir à elle seule *M. bovis* et constituait le premier réservoir sauvage français de *M. bovis*.

Cependant, avec la présence concomitante de deux espèces fortement infectées (le cerf et le sanglier) et de trois autres dans des proportions beaucoup plus marginales (le renard, le chevreuil et le blaireau), le rôle de chaque espèce vis à vis de *M. bovis* était difficile à définir. Compte tenu du tableau lésionnel important observé chez les cervidés de la forêt de Brotonne et de la forte sensibilité des cervidés à *M. bovis* décrite dans la littérature étrangère, il a été émis l'hypothèse que le cerf se comportait comme réservoir de *M. bovis*. Concernant le sanglier, la proportion plus faible de lésions généralisées laissait à penser que son rôle vis à vis de *M. bovis* est moindre comparé au cerf, il agissait plutôt comme un hôte de liaison. Enfin, pour le chevreuil, le renard et le blaireau un cas anecdotique par espèce d'infection à *M. bovis* ont été recensés en 2005, ces trois espèces semblaient se comporter comme des cul de sac épidémiologique mais une surveillance doit être maintenue sur ces espèces afin de vérifier cette hypothèse (tableau 29).

Compte tenu de la situation à la fin de la saison de chasse 2005-2006, il fut décidé de maintenir les mesures mises en œuvre au début des années 2000 et d'éliminer totalement les cervidés, considérés comme seul réservoir sauvage à *M. bovis*. Un effort supplémentaire a également été demandé aux chasseurs afin de diminuer une nouvelle fois la densité de sanglier sur le massif, la figure 14 montre l'augmentation des tableaux de chasse en 2006-2007 et 2007-2008 qui a conduit à une stabilisation des tableaux à des niveaux comparables à ceux réalisés dans le début des années 2000.

**Figure 14.** Evolution du tableau de chasse sanglier entre 2000 et 2012



### 3. Evolution de la situation épidémiologique après 2006

Suite à la décision d'éradiquer la population de cervidés et de diminuer les effectifs de sangliers, en l'espace de deux ans une chute spectaculaire de la prévalence a pu être observée chez le sanglier (0,66 % en 2009-2010 contre 37 % en 2005-2006) et dans la population résiduelle de cervidés (2 infectés sur 20 prélevés en 2009-2010 contre 23 % en 2005-2006, tableau 29). Dans le même temps, aucun autre cas d'infection par *M. bovis* n'a été détecté dans les autres espèces sous surveillance (tableau 29).

Depuis la saison 2010-2011 plus aucun cervidé ne s'est révélé infecté par *M. bovis* sur les quelques prélèvements réalisés sur les derniers animaux restants sur le massif (estimés entre 10 et 20 individus). Concernant les sangliers, *M. bovis* y circulait toujours à très bas bruit et une source d'infection persistait dans la forêt comme en témoignait la découverte, lors de la saison 2011-2012 de deux jeunes sangliers infectés mais ne présentant aucune lésion à l'autopsie.

De tels résultats étaient encourageants mais requéraient une surveillance similaire aux saisons précédentes afin de suivre l'évolution de la situation et le bon assainissement de la forêt de Brotonne.

Nous avons eu la chance de pouvoir réaliser les campagnes de prélèvements lors des deux saisons de chasse suivantes (2012-2013 et 2013-2014), les objectifs, le matériel, les méthodes de prélèvements et les résultats sont présentés ci dessous.

## II. Objectifs et partenaires

### 1. Objectif des programmes 2012-2013 et 2013-2014

Le plan de lutte contre la tuberculose de la faune sauvage de la forêt de Brotonne a été fondé sur l'éradication de la population de cerfs considérée comme le réservoir primaire, sur la réduction des densités de sangliers, considérés comme réservoirs secondaires, sur la collecte et l'élimination des viscères des animaux tués à la chasse et sur l'interdiction d'agrainer les animaux à poste fixe.

Pour vérifier l'efficacité du plan de lutte et maîtriser les risques persistants de contaminations bovines et humaines, le programme de surveillance épidémiologique de la tuberculose en forêt de Brotonne a été poursuivi lors des saisons 2012-2013 et 2013-2014, comme l'avait préconisé l'Anses dans son avis 2010 (Afssa 2010).

Les objectifs du programme 2012-2013 étaient:

- de contrôler le statut sanitaire de la population résiduelle de cerfs, composée quelques individus devenus très difficiles à abattre compte tenu de leur rareté ;
- de suivre l'évolution de la prévalence de l'infection et du tableau lésionnel chez le sanglier en analysant un échantillon d'animaux de manière aléatoire, comme en 2011-2012 ;
- de maintenir une surveillance chez le chevreuil et chez le renard et le blaireau de manière allégée par rapport à 2011-2012, afin de vérifier que la maladie ne s'étendait pas à ces espèces qui, pour l'instant, semblaient jouer un rôle très marginal.

Pour la saison 2013-2014, les objectifs de la saison précédentes ont été maintenus mais la découverte d'un foyer de tuberculose bovine dans une exploitation à proximité de la forêt de Brotonne sur la commune de la Mailleraye sur Seine a conduit à une surveillance plus importante de la population de blaireaux autour de l'exploitation touchée.

### 2. Partenaires

La Direction générale de l'alimentation (DGAL) est le maître d'ouvrage du programme de surveillance. L'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) est le maître d'œuvre du programme. L'unité sanitaire de la faune (USF/Direction des études et de la recherche) assure l'élaboration du protocole de surveillance et la coordination générale du programme.

Les partenaires du programme sont les suivants :

- l'Office national des forêts qui est le principal gestionnaire des territoires chassés en forêt de Brotonne. Il sera chargé d'organiser le regroupement des prélèvements en les mettant à disposition soit du vétérinaire de terrain, soit du LAVD 76 ;
- tous les propriétaires ou locataires de lots de chasse inclus dans la zone d'étude ;
- les détenteurs de bois privés situés en forêt de Brotonne, dont les tableaux de chasse seront inclus dans le protocole de prélèvements ;
- les Fédérations départementales de chasseurs de la Seine-Maritime et de l'Eure ;
- les services vétérinaires (DDPP) de la Seine-Maritime et de l'Eure ;
- le Laboratoire agro-vétérinaire de la Seine-Maritime (LAVD 76). Il réceptionnera les prélèvements, préparera les ganglions et effectuera les cultures bactériennes ;
- l'Unité Zoonoses Bactériennes (Laboratoire national de référence pour la tuberculose animale) du Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort de l'Anses.

### III. Protocole

#### 1. Territoire d'étude

Le territoire d'étude est resté inchangé par rapport aux enquêtes précédentes, à savoir la forêt de Brotonne-Mauny décrite plus haut.

#### 2. Période d'étude

La période d'étude a couvert les saisons de chasse en battues 2012-2013 et 2013-2014 soit de mi-October jusqu'à fin Février pour chaque saison de chasse.

#### 3. Espèces étudiées, échantillonnage, protocole de prélèvement

Les enquêtes 2012-2013 et 2013-2014 se sont concentrées sur les espèces chez lesquelles *M. bovis* a été précédemment détecté, c'est à dire principalement le cerf et le sanglier, et secondairement le chevreuil et le blaireau, en mettant l'accent sur le sanglier dont le rôle de sentinelle épidémiologique reste primordial et doit permettre à terme de vérifier si l'assainissement de la forêt est atteint ou non (Tableau 8).

**Cerf :** Le recoupement des informations fournies par les chasseurs et les agents de l'ONF a permis d'estimer l'effectif de cerfs encore présents dans les forêts de Brotonne-Mauny à une dizaine d'individus avant chasse.

A cette population résiduelle vient s'ajouter une partie des cervidés initialement présents dans le parc du château de Mauny et qui se sont échappés suite aux abattages diagnostiques réalisés

dans le parc le 26 septembre 2012, où 24 daims et deux cerfs ont été abattus dans le parc. Ces animaux échappés étaient estimés à une dizaine d'individus.

Tous les cerfs abattus en forêt de Brotonne et dans le parc de Mauny et sa périphérie ont été, autant que possible, inspectés avec un relevé des lésions observées dans la mesure où le dépistage de la tuberculose chez le cerf est fondé sur l'inspection détaillée des carcasses. Etant donnée la persistance de la maladie dans la population résiduelle constatée jusqu'en 2009-2010 et vu le nombre restreint d'animaux à analyser, il a été prélevé systématiquement sur les cervidés inspectés **les ganglions céphaliques, pulmonaires et mésentériques** pour mise en culture au LAVD 76.

**Sanglier** : Comme en 2011-2012, l'objectif était d'examiner un maximum d'animaux pour estimer le taux de portage de lésions macroscopiques. Parmi l'ensemble des animaux inspectés, **200 sangliers** ont été prélevés par le vétérinaire de manière aléatoire, sans critères de sélection au fur et à mesure que les animaux étaient éviscérés, afin d'évaluer la prévalence d'infection dans la population. Dans la mesure où les quatre sangliers trouvés infectés par *M. bovis* lors des trois précédentes saisons de chasse l'étaient au niveau d'un ganglion céphalique ou pulmonaire et qu'il n'a quasiment jamais été trouvé de sangliers infectés uniquement au niveau des ganglions mésentériques, il a été décidé de simplifier le protocole de prélèvements par rapport aux années précédentes : seuls **les ganglions mandibulaires et rétro-pharyngiens (céphaliques), les ganglions pulmonaires et médiastinaux ainsi que d'éventuelles lésions organiques ou ganglionnaires** étaient prélevés. Les ganglions mésentériques étaient inspectés mais n'étaient plus systématiquement prélevés. Les ganglions prélevés sont ensuite analysés en pool au laboratoire pour limiter le nombre d'analyses. Lors de la saison 2013-2014, les ganglions pulmonaires et médiastinaux étaient toujours examinés mais seuls les ganglions céphaliques étaient prélevés systématiquement.

**Chevreuil** : **50 individus** au minimum devaient être inspectés de manière détaillée (examen de la carcasse et des viscères, examen et coupe des ganglions céphaliques, trachéo-bronchiques et médiastinaux par le vétérinaire de terrain). Toute lésion suspecte a fait l'objet d'un prélèvement pour mise en culture au LAVD 76.

**Blaireau** : les animaux collectés en 2010-2011 et 2011-2012 étant indemnes de tuberculose et vu la difficulté de capturer ces animaux en forêt de Brotonne, il n'a pas été prévu de campagne de piégeage en 2012-2013. Par contre, tout cadavre de blaireaux trouvé dans ou à proximité de la forêt de Brotonne était acheminé entier au LAVD 76 où était pratiquée une autopsie, une recherche d'éventuelles lésions tuberculeuses et des prélèvements de ganglions (rétro-pharyngiens, pulmonaires (médiastinaux et trachéobronchiques), hépatiques et mésentériques) en vue d'une mise en culture sur place qu'il y ait des lésions ou non. Ce protocole a été reconduit pour la saison suivante, mais avec la découverte d'un foyer de tuberculose bovine à proximité de la forêt de Brotonne, une campagne de piégeage autour du foyer a également été organisée.

En parallèle de cet échantillonnage aléatoire, les chasseurs continuaient d'apporter au point de contrôle vétérinaire les viscères des animaux présentant des lésions abcédées visibles

afin que soit tenu un répertoire des lésions observées rapporté au nombre de sangliers éviscérés, même si ces lésions ne faisaient pas l'objet de prélèvements systématiques pour analyse.

Les prélèvements faits sur chaque espèce sont résumés dans le tableau 8.

**Tableau 8 :** Objectifs d'échantillonnage et protocole d'analyse prévus pour chaque espèce d'étude

Espèce	Objectifs d'échantillonnage	Prélèvements	Analyse prévue
<b>Cerf</b> ( <i>Cervus elaphus</i> )	Tout individu	Systématique : NL RP, NL MD, NL PM et NL Més	PCR/Mise en culture <sup>(1)</sup>
<b>Sanglier</b> ( <i>Sus scrofa</i> )	200	Systématique : NL RP, NL PM <sup>(2)</sup>	PCR/Mise en culture
<b>Chevreuril</b> ( <i>C. capreolus</i> )	50	Uniquement si lésion	Mise en culture
<b>Blaireau</b> ( <i>Meles meles</i> )	Non défini	Systématique : NL RP, NL MD, NL PM et NL Més <sup>(3)</sup>	Mise en culture
<b>Renard</b> ( <i>Vulpes vulpes</i> )	Non défini	Uniquement si lésion	Mise en culture

NL = Nœud Lymphatique ; RP = rétro-Pharyngien ; MD=Mandibulaire ; PM = Pulmonaire ; Més = Mésentérique

(1) = PCR lors de la saison 2012/2013 et mise en culture durant la saison 2013/2014.

(2) = Prélèvement réalisé systématiquement lors de la saison 2012-2013 mais pas durant la saison 2013-2014.

(3)= Valable pour la saison 2013-2014, en 2012-2013 seuls les ganglions suspects étaient analysés.

#### 4. Déroulement des inspections / prélèvements sur le terrain

Les inspections et prélèvements se déroulaient à la fin de chaque chasse soit le weekend et le lundi principalement. Quelques groupes de chasseurs chassaient également en dehors de ces jours, par exemple à La Harelle (figure 12) le territoire était chassé le jeudi. L'inspection des carcasses et les prélèvements se déroulaient le plus souvent possible aux rendez vous de chasse permettant l'inspection de la carcasse ainsi que des viscères mis de côté pour les prélèvements (la tête et les blocs trachée – poumons – cœur et estomac – intestins). Après inspection des carcasses, les prélèvements nécessaires étaient réalisés en fonction de l'espèce, suivant le protocole établi ci-dessus. Parfois, étant donné le nombre importants de lots à visiter simultanément, l'inspection des carcasses n'était pas réalisable sur tous le rendez vous de chasse. Il était alors demandé aux chasseurs de réaliser eux mêmes l'inspection des carcasses et de déposer dans l'un des points de collecte un sac par animal tué contenant : la tête, le bloc pulmonaire et les viscères. Pour chaque animal, une étiquette était jointe au sac, il y figurait (figure 15):

-la date de prélèvement,

- l'espèce (sanglier, chevreuil, cerf),
- le numéro de bracelet,
- le sexe,
- le poids,
- le lieu de prélèvement.

**Figure 15.** Etiquette de prélèvement à remplir par les chasseurs

DATE chasse : 8/02	
NOM du préleveur : NOTRE DAME	
LIEU de chasse : NOTRE DAME	
N° bracelet : 0599	
ESPECE : SANGLIER	LESION (s) : NON <input checked="" type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/>
SEXE - AGE - POIDS 1 AN MALE 45 kg	Viscères <input type="checkbox"/>
	Peau <input type="checkbox"/>
	Poumons <input type="checkbox"/>
	Articulations <input type="checkbox"/>
	Carcasse <input type="checkbox"/>
	Muscle <input type="checkbox"/>
Merci de me contacter au 06 70 39 92 45 (Charles Tesnière)	

Chaque type de ganglion ou d'organe était collecté dans des pots de prélèvements séparés et pré-étiquetés avec le numéro du prélèvement (BR-2013-XXX) et le type de prélèvement. Un premier pot regroupait les ganglions céphaliques, le deuxième pot contenait les ganglions pulmonaires et médiastinaux. A ces deux pots pouvaient éventuellement s'ajouter un pot contenant les ganglions mésentériques (en cas de lésion ou bien s'il s'agissait d'un cervidé) ou bien un pot contenant des lésions organiques suspectes. Pour éviter des contaminations qui auraient compromis la mise en culture au laboratoire, tous les ganglions n'étaient pas incisés : au moins un ganglion de chaque type (rétro-pharyngien, pulmonaire et mésentérique) était laissé intègre. Les pots à prélèvements issus d'un même animal étaient regroupés dans un sac congélateur permettant une bonne étanchéité afin d'éviter une éventuelle contamination de tout un lot de prélèvements. Sur ce sac était également inscrit le numéro de prélèvement (BR-2013-XX).

Lors de la saison 2013-2014, le protocole était presque identique à celui de l'année antérieure présenté en supra avec pour seule différence le fait que pour les sangliers, un seul pot regroupant les ganglions céphaliques était rempli de manière systématique et les numéros de prélèvements étaient BR-2014-XXX.

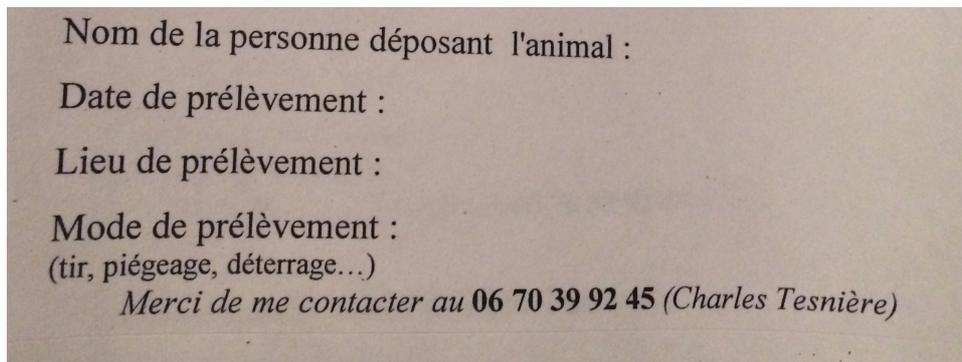
Pour chaque animal faisant l'objet de prélèvements une fiche de commémoratif (Annexe 3) était remplie et jointe aux prélèvements. Cette fiche indiquait le lieu, la date, l'identité du préleveur, l'espèce prélevée, l'âge estimé, le sexe, les organes prélevés, les

observations éventuelles. Elle portait le numéro déjà reporté sur les pots et sacs de prélèvements (BR-2013-XXX). Ces données étaient ensuite saisies dans la base de données (Tableau Excel) tenue par le LAVD 76. Les prélèvements étaient acheminés dans un congélateur au garage de la DDPP le dimanche ou le lundi soir. Ils étaient déposés le lendemain au LAVD76 par un agent de la DDPP. Entre le moment où ils étaient prélevés et le moment où ils étaient acheminés jusqu'au laboratoire, les échantillons étaient conservés dans des réfrigérateurs situés aux points de collecte (Maison forestière des Landes dans la forêt de Brotonne et Maison forestière des Douglas dans la forêt de Mauny) ainsi qu'à la Maison forestière de Caveaumont.

Pour tout animal inspecté (qu'il fasse l'objet ou non de prélèvements), le sexe, le poids, l'âge et le lieu où il a été tué et toute autre observation étaient consignés de manière manuscrite avant d'être saisie sur informatique. L'âge des animaux était estimé en distinguant deux classes d'âge pour les sangliers: moins d'un an (< 50 kg) et plus d'un an (> 50 kg).

Les blaireaux tués à la chasse, par piégeage ou retrouvés mort étaient déposés entiers dans ces points de collecte, accompagnés d'une étiquette stipulant le mode, le lieu et le jour de prélèvement et précisant le nom du découvreur (figure 16).

**Figure 16.** Etiquette à remplir par les personnes apportant un blaireau



Nom de la personne déposant l'animal :  
Date de prélèvement :  
Lieu de prélèvement :  
Mode de prélèvement :  
(tir, piégeage, déterrage...)  
*Merci de me contacter au 06 70 39 92 45 (Charles Tesnière)*

## 5. Matériel

Le matériel nécessaire aux prélèvements nous été fourni par le LAVD 76 et la DDPP 76 (tableau 9).

**Tableau 9.** Liste du matériel fourni par la DDPP et le LAVD76

Matériel fourni par le LDAV 76	Matériel fourni par la DDPP 76
<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 fûts en plastique</li> <li>- pots à prélèvements en plastique (couvercle rouge ou blanc)</li> <li>- désinfectant pour les mains</li> <li>- désinfectant pour les couteaux et ciseaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- fiches de commémoratifs</li> <li>- sacs poubelle (grands + petits)</li> <li>- sacs congélateurs</li> <li>- gants bleus</li> <li>- gants de vêlage</li> <li>- masques faciaux</li> <li>- gant en maille d'acier</li> <li>- feutres/marqueurs (pour identifier les prélèvements)</li> <li>- 1 couteau</li> <li>- 1 paire de ciseaux</li> <li>- bac pour désinfecter les couteaux + ciseaux</li> <li>- bacs gris pour la voiture</li> <li>- papier absorbant</li> <li>- étiquettes (vierges et préimprimées)</li> <li>- bottes</li> <li>- bassine pour désinfection des bottes</li> </ul>

A noter que la DDPP 76 a également participé financièrement à l'enquête en mettant à disposition du vétérinaire vacataire un véhicule administratif et en assurant l'impression des documents d'information et des fiches commémoratives.

## 6. Protocole de laboratoire

Une fois acheminé au LAVD 76, les prélèvements étaient systématiquement examinés macroscopiquement avant la mise en culture. Les prélèvements pouvaient quelque fois être congelés avant la mise en culture si les étuves étaient pleines, le traitement de ces prélèvements qui était différent selon l'espèce et les lésions éventuelles (les modalités sont décrites ci dessous). Après réception de chaque prélèvement, tous les commémoratifs, les lésions observées par le vétérinaire de terrain, les lésions macroscopiques observées au laboratoire à l'ouverture des ganglions et organes prélevés et ultérieurement les résultats des cultures étaient saisis dans un tableur excel.

### Pour le sanglier :

- Un pool contenant les ganglions céphaliques et pulmonaires lors de la saison 2012-2013 et uniquement les ganglions céphaliques pour la saison 2013-2014 était constitué ;
- Un pool contenant les éventuelles lésions organiques ou ganglionnaires (autres que céphaliques et pulmonaires) était réalisé ;
- La mise en culture de ces pools était ensuite réalisée.

#### Pour le chevreuil

- La mise en culture des ganglions lésés et/ ou lésions organiques était réalisée.

#### Pour le cerf,

- Un pool des ganglions prélevés est constitué, en 2012-2013 une PCR était réalisée à partir de ce pool mais en 2013-2014 le pool était mis en culture.

#### Pour le blaireau

- Une autopsie était réalisée ;
- Un pool contenant les ganglions céphaliques, pulmonaires, hépatiques, mésentériques et mésentériques et d'un pool contenant d'éventuelles lésions organiques observées était constitué puis mis en culture durant la saison 2013-2014. En 2012-2013, seules d'éventuelles lésions étaient mises en culture.

La mise en culture au LVD76 était réalisée selon la norme NF U47-104. Cependant, compte tenu de l'objectif de l'étude (recherche spécifique de *Mycobacterium bovis*) et en accord avec le LNR tuberculose de l'Anses Alfort, l'incubation des milieuxensemencés a été faite exclusivement à 37°C.

En plus de la mise en culture, des analyses PCR pouvaient être réalisées au LAVD lorsque des lésions fortement évocatrices de tuberculose étaient observées, permettant d'avoir une réponse plus rapide qu'avec une mise en culture ; ou bien lorsque les prélèvements étaient contaminés et que la décontamination était impossible.

Une fois l'ensemble de ces analyses réalisées, les souches isolées étaient transmises à l'ANSES d'Alfort pour identification par typage moléculaire et caractérisation des souches de *Mycobacterium bovis*.

## IV. Résultats

### 1. Bilan général des inspections réalisées

#### 1.1 Saison 2012/2013

Au total, nous avons pu inspecter **275 animaux** : **205 sangliers, 67 chevreuils et 3 cerfs** (tableau 10). **2 renards et 4 blaireaux** ont également été apportés au laboratoire.

On notera que le tableau de chasse du sanglier et du chevreuil pour la saison 2012-2013 s'est élevé respectivement à 470 et 206 animaux.

**Tableau 10:** Nombre d'individus inspectés (prélevés ou non) par espèce lors de la saison 2012-2013

Espèce	Nombre d'individus inspectés		
	Prélevés	Non prélevés	Total
Sanglier	205	0	205
Chevreuril	3	64	67
Cerf	3	0	3
<b>Total</b>	<b>211</b>	<b>64</b>	<b>275</b>

Tous ces animaux ont été tirés ou trouvés (pour les carnivores) exclusivement en forêt de Brotonne (93 % en forêt domaniale, 4 % dans les forêts communales et 3 % dans les bois privés du 76 et du 27 : tableau 11).

**Tableau 11:** Nombre d'individus inspectés par espèce et en fonction du type de gestion de la forêt lors de la saison 2012-2013

Forêt de Brotonne	Nombre d'individus inspectés durant la saison 2012-2013			
	Sanglier	Chevreuril	Cerf	Total
Forêt domaniale	187	66	3	256
Forêts communales	9	1	0	10
Bois privés 76-27	9	0	0	18
<b>Total</b>	<b>205</b>	<b>67</b>	<b>3</b>	<b>275</b>

## 1.2 Saison 2013/2014

Lors de la saison suivante, nous avons pu inspecter un total de **261 animaux** : (tableau 12).

- **200 sangliers,**
- **59 chevreuils,**
- **2 cerfs.**

**17 blaireaux** ont également été apportés au laboratoire en vue d'une autopsie et d'une mise en culture des nœuds lymphatiques.

On notera que le tableau de chasse du sanglier et du chevreuil pour la saison 2012-2013 s'est élevé respectivement à 403 et 230 animaux.

**Tableau 12:** Nombre d'individus inspectés (prélevés ou non) par espèce lors de la saison 2013-2014

Espèce	Nombre d'individus inspectés durant la saison 2013-2014		
	Prélevés	Non prélevés	Total
Sanglier	200	0	200
Chevreuril	2	57	67
Cerf	2	0	3
<b>Total</b>	<b>204</b>	<b>57</b>	<b>261</b>

Tous ces animaux ont été tirés ou trouvés exclusivement en forêt de Brotonne (90 % en forêt domaniale, 5 % dans les forêts communales et 5 % dans les bois privés du 76 et du 27 : tableau 13).

**Tableau 13:** Nombre d'individus inspectés par espèce et en fonction du type de gestion de la forêt lors de la saison 2013-2014

Forêt de Brotonne	Nombre d'individus inspectés durant la saison 2013-2014			
	Sanglier	Chevreuil	Cerf	Total
Forêt domaniale	178	55	2	235
Forêts communales	9	4	0	13
Bois privés 76-27	13	0	0	13
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>59</b>	<b>2</b>	<b>261</b>

## 2. Chez le cerf

### 2.1 Inspections et prélèvements en forêt de Brotonne

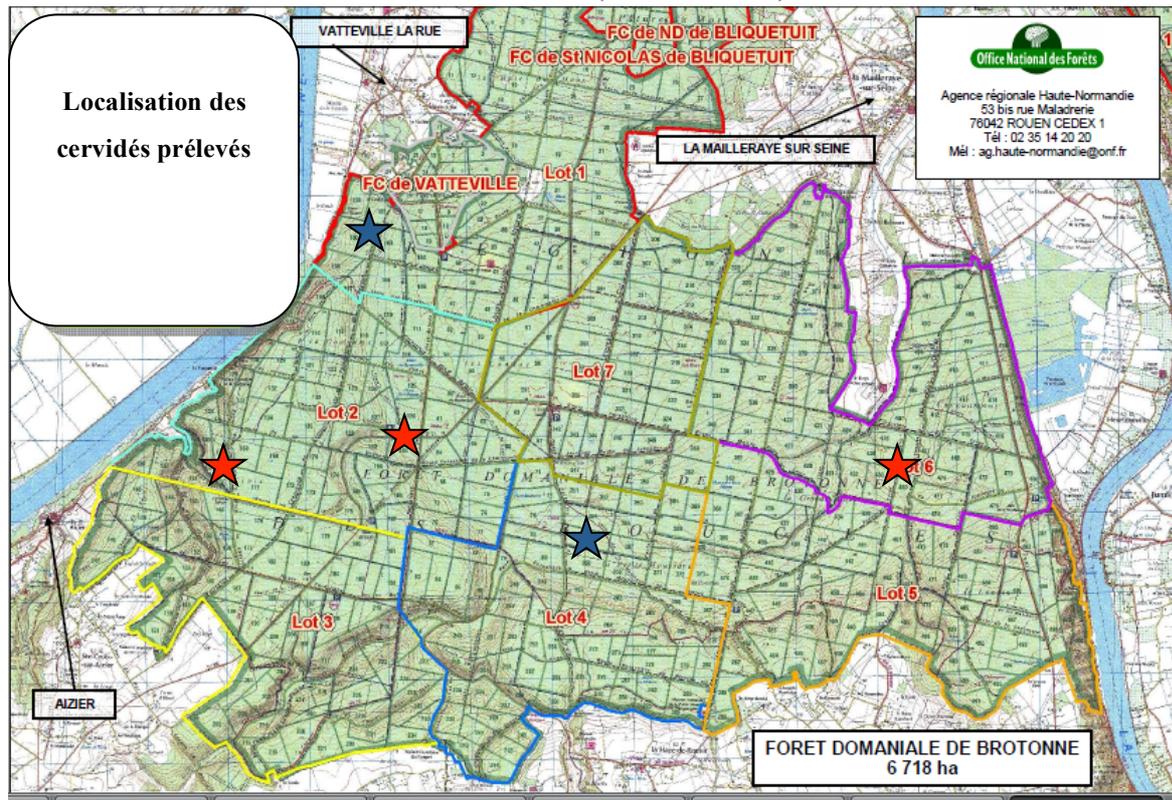
La population résiduelle de cervidés encore présente en forêt de Brotonne est estimée à une dizaine d'individus, cet effectif est resté stable entre les saisons 2012/2013 et 2013/2014. Au total, 6 cervidés ont été tués sur l'ensemble des deux saisons. En 2012-2013, 3 biches dont une gestante ont été abattues lors de chasse en battue se déroulant dans les lots n° 2 et 6 (figure 17). Deux des biches ont été tuées en début de saison et étaient accompagnées de leur faon. Les 3 cervidés ont pu être inspectés visuellement et les ganglions céphaliques, pulmonaires et mésentériques ont pu être prélevés (tableau 14). Le 4<sup>ème</sup> cervidé abattu au cours de la saison 2012-2013 était un daguet (cerf male de 2 ans) abattu en forêt de Mauny, il n'a pas pu être examiné ni prélevé par le vétérinaire de terrain mais d'après les chasseurs l'aspect général de la carcasse était bon.

En 2013-2014 deux biches ont été abattues, la première était seule et la deuxième accompagnée d'un cerf et d'un faon. Ces deux animaux ont pu être examinés visuellement et prélevés.

**Tableau 14:** Données concernant les cervidés examinés et prélevés lors des saisons 2012-2013 et 2013-2014

Date	Type	Sexe	Poids	Lot	Parcelle	Examen et prélèvements
04/11/2012	Biche	♀	77	2	140	Complet
18/11/2013	Biche	♀	77	2	163	Complet
11/02/2013	Biche	♀	85	6	470	Complet
05/01/2014	Biche	♀		1	104	Complet
02/02/2014	Biche	♀	93	4	355	Incomplet

**Figure 17.** Lieu d'abattage des Cervidés abattus lors des saisons 2012-2013 (étoiles rouges) et 2013-2014 (étoiles bleues)



## 2.2 Cervidés du parc de Mauny

Le 26 septembre 2012, deux cerfs et 24 daims avaient été abattus à l'intérieur de parc privé de Mauny (figure 13).

Entre le 26 septembre et le 28 octobre, trois biches, deux cerfs et 6 daims ont été abattus à l'extérieur de ce parc.

Le 19 juin 2013, les 14 daims qui restaient dans le parc ont été capturés pour être transférés en Eure et Loire.

## 2.3 Tableau lésionnel

Aucune lésion macroscopique n'a été observée sur les carcasses des individus abattus en forêt de Brotonne ou dans le parc de Mauny. L'inspection des nœuds lymphatiques n'a pas mis en évidence de lésions abcédées purulentes, caséuses, caséo-calcaires ou calcifiées.

## 2.4 Analyses de laboratoire

Les cultures se sont toutes avérées négatives pour *M. bovis*, que ce soit les cervidés tués en forêt de Brotonne, ou bien dans le parc de Mauny.

**Depuis 2010-2011, aucun cerf n'a été trouvé porteur de *M. bovis* parmi ceux prélevés dans la population résiduelle en forêt de Brotonne ou présente dans le parc de Mauny (figure 26).**

### **3. Chez le sanglier**

#### **3.1 Saison 2012/2013**

##### **3.1.1 Inspections et prélèvements**

**Nombre et Sexe :** 205 sangliers (101 mâles et 104 femelles) ont été inspectés au cours de la saison de chasse 2012-2013, tous ont fait l'objet de prélèvements, qu'il y ait ou non la présence de lésions (Tableau 15). L'objectif de 200 sangliers prélevés a été légèrement dépassé car certains prélèvements étaient incomplets, en effet l'examen et le prélèvement de l'ensemble des ganglions nécessaires n'était pas toujours possible, 5 prélèvements supplémentaires ont donc été réalisés.

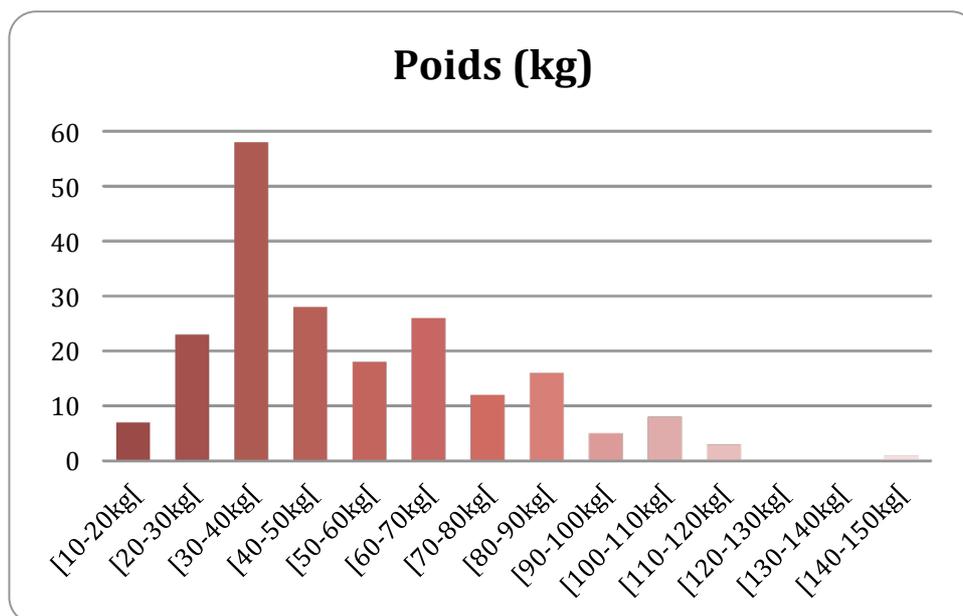
On ne note pas de différence significative (test du  $X^2$  ;  $p > 0,05$  ; Tableau 16) entre mâles et femelles dans l'échantillon prélevé, par rapport à la population générale (estimée à 50 % de mâles et de femelles).

**Tableau 15 :** Répartitions des sangliers inspectés en fonction du sexe durant la saison 2012-2013

<b>Sexe</b>	<b>Nombre (%)</b>
<b>Mâles</b>	101 (49 %)
<b>Femelles</b>	104 (51 %)

**Poids et âge :** L'âge des animaux était estimé par rapport au poids de l'animal : les animaux de moins de 50 kg étaient considérés comme ayant moins d'un an, et ceux de plus de 50 kg comme ayant plus d'un an. Les 205 sangliers inspectés pesaient en moyenne 51 kg (Ecart-type : 24 ; Médiane : 43 kg ; Minimum : 12 kg ; Maximum : 147 kg ; Figure 18).

**Figure 18.** Répartition des sangliers inspectés en fonction de la classe de poids



L'échantillon de sangliers inspectés était constitué d'une majorité de jeunes individus (<50 kg) (57 % vs 43 %,  $p < 0,05$  ; Tableau 16), ce qui est cohérent avec la composition classique d'un tableau de chasse de sangliers.

**Tableau 16 :** Répartition des sangliers inspectés (prélevés ou non) en fonction des deux classes de poids durant la saison 2012-2013

Poids	Nombre de sangliers inspectés (%)
< 50kg	116 (57 %)
≥50kg	89 (43 %)

Cette différence peut s'expliquer par les consignes données en début de chasse dans plusieurs lots, à savoir de ne pas tirer les femelles de plus de 60 kg (considérées comme étant les laies reproductrices assurant le renouvellement de la population). La plupart du temps, si un doute subsiste quant au sexe d'un animal pouvant dépasser ce seuil de poids critique, le chasseur ne le tirera pas. Toutefois, la disparité entre le nombre de jeunes animaux prélevés et le nombre d'adultes semblent moins importante que les années précédentes. Cette diminution peut s'expliquer par une nouvelle consigne de l'Office National de la Forêt qui demande aux chasseurs de prélever un quota de laies adultes.

**Lieu d'abattage :** Les 205 sangliers ont été abattus en forêt de Brotonne (Tableau 17), les différents lieux de prélèvements peuvent être situés grâce à la carte sur la figure 12.

**Tableau 17** : Nombre de sangliers inspectés et abattus dans chaque zone de la forêt durant la saison 2012-2013

<b>Zone de la forêt de Brotonne</b>	<b>Nombre de sangliers inspectés</b>	<b>Nombre de sangliers tués</b>
Forêt domaniale	<b>187</b>	<b>263</b>
Lot 1	28	
Lot 2	41	
Lots 3-4-5-6	116	
Lot 7	2	
<b>Forêts communales</b>	<b>9</b>	<b>30</b>
Saint Nicolas de Bliquetuit	2	
Notre Dame de Bliquetuit	7	
Vatteville la rue	0	
<b>Bois privés 76-27</b>	<b>9</b>	<b>105</b>
Bourneville	8	
Ste croix sur Aizier	1	

*A ce tableau correspondant à la zone d'étude, s'ajoutent 72 sangliers tués en forêt de Mauny, non inspectée, ou hors chasse ou de manière occulte ou de marcassins pour arriver au tableau total déclaré par l'ONF de 470 animaux pour la saison 2012-2013*

### 3.1.2 Tableau lésionnel

En fonction des observations réalisées au cours de l'examen visuel, les animaux ont été classés en différentes catégories (tableau 18):

- «**sain** » = animal ne présentant **pas de lésion macroscopique** ;
- «**douteux**» = animal présentant des **lésions** sur un ou plusieurs des différents sites d'examen, mais **non caractéristiques de la tuberculose** . ;
- «**suspects**» de tuberculose = animal présentant des **lésions évocatrices de tuberculose** (d'après l'expérience acquise lors des précédentes enquêtes, ainsi que ce qui est rapporté dans la littérature): **lésions abcédées purulentes, caséuses, caséo-calcaires ou calcifiées**.

Aucune lésion macroscopique évocatrice de tuberculose n'a été observée en dehors des ganglions lymphatiques. Les lésions ont été la plupart du temps observées sur un seul type de ganglions, voire sur un seul ganglion (mais une partie des ganglions ne sont pas incisés en vue des analyses en laboratoire). Dans l'ensemble, les lésions observées sur les ganglions ont toujours été circonscrites et de petite taille, de l'ordre du millimètre. L'incision des ganglions est quasiment indispensable pour visualiser ces lésions.

Le bilan des lésions observées apparaît dans le tableau 19.

**Tableau 18** : Nombre de sangliers prélevés, inspectés totalement durant la saison 2012-2013 et statut

Examen visuel des ganglions		Statut fonction des lésions observées	
Complet	189	Sain	179
		Douteux	9
		<b>Suspect</b>	<b>1</b>
Incomplet	16	Sains	16

Les 16 prélèvements incomplets correspondent à 16 animaux où l'inspection des nœuds lymphatiques n'a pu être réalisée dans son intégralité. L'inspection des nœuds lymphatiques ne peut pas toujours être complète pour plusieurs raisons : les nœuds lymphatiques sont trop abîmés par la balle, la tête peut être gardée en trophée ou pour sa consommation ce qui ne permet pas toujours d'inspecter correctement les ganglions céphaliques, ou bien lorsque les chasseurs déposent les sacs aux points de collecte, il manque parfois certains organes. Il est également arrivé que l'animal prélevé soit blessé, le plus souvent par balle, depuis un certain temps et l'animal est jeté en entier car impropre à la consommation. Dans ces cas là, seule la tête était découpée pour le prélèvement des ganglions céphaliques, le reste des ganglions n'était pas inspecté.

Les animaux classés « sains » pouvaient présenter des lésions mais celles-ci n'avaient aucun rapport avec le tableau évocateur de tuberculose : abcès sur un muscle dus à une blessure, pleurésie, pyélonéphrite, parasitisme...

Les animaux classés « douteux » présentaient les lésions suivantes : hypertrophie ou congestion de certains nœuds lymphatiques, ganglions avec lésions ponctiformes à la coupe ; ganglions présentant une modification d'aspect à la coupe mais sans être purulent, caséux ou calcifiés ; ganglions présentant une induration blanche mais non calcifiée.

Les lésions observées sur le seul animal suspect sont décrites dans le tableau 19.

**Tableau 19.** Lésions observées sur le sanglier « suspect » lors de la saison 2012-2013

Date de la chasse	Espèce	Sexe	Poids (kg)	Lot	Parcelle	Lésion
18/02/2013	Sanglier	F	62	5	494	NL SM hypertrophiés et calcifiés.

NL = Nœud Lymphatique; SM = Sous-Mandibulaire ;

#### Prévalence lésionnelle apparente

Les animaux considérés comme « douteux » (9 sangliers) ne sont pas inclus pas dans le calcul de la prévalence apparente, partant du principe qu'au cours d'une inspection classique d'abattoir, ils ne feraient pas l'objet d'une suspicion de tuberculose. De même, les

prélèvements/examens incomplets ont été écartés pour le calcul du pourcentage d'animaux à lésions afin d'éviter de sous-estimer le pourcentage réel.

Si on ne prend en compte que les animaux dont tous les nœuds lymphatiques ont été inspectés, on obtient un échantillon de 189 sangliers dont un seul a été classé « suspect ». D'où une prévalence lésionnelle apparente de :

$$1/(189) = 0,53 \% \text{ (IC}_{95\%} : 0 \% - 2,0 \% \text{)}$$

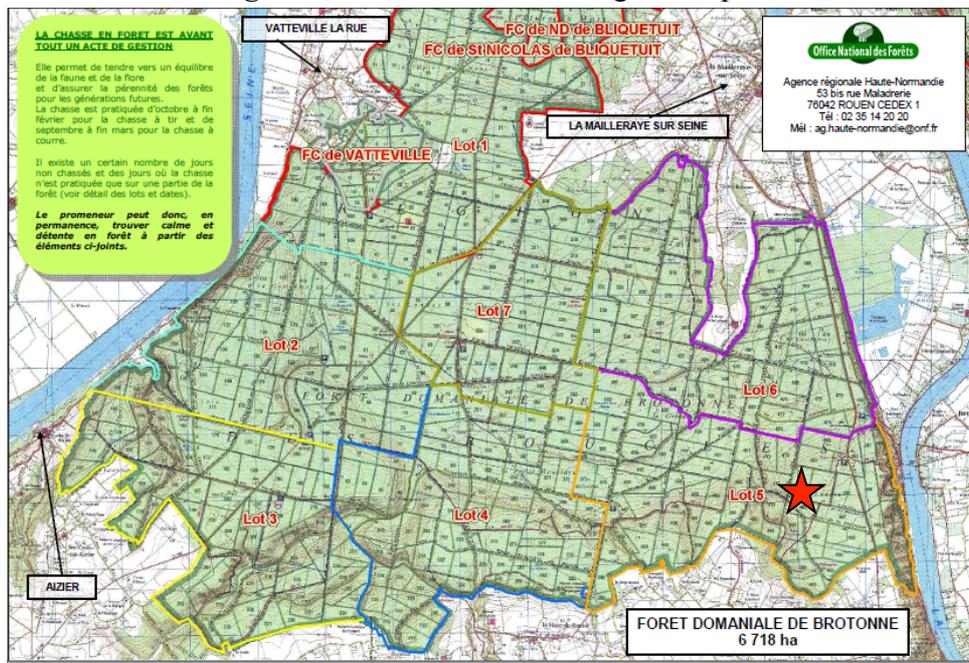
La prévalence lésionnelle apparente est significativement inférieure à celle de 2011-2012 (4,5 % ;  $p < 0,05$  ; Tableau 25) et de 2010 - 2011 (7,3 % ;  $p < 0,05$ ).

La tendance semble donc bien être à la baisse, cependant, il faut bien garder à l'esprit que la corrélation entre lésions et portage bactérien est faible chez le sanglier. Il est donc indispensable de prendre en compte les résultats des mises en culture avant de s'aventurer dans une interprétation trop rapide des résultats.

### Description de l'animal suspect :

Le seul sanglier considéré comme suspect lors de la campagne 2012-2013 a été prélevé le 18/02/2013. Il s'agit d'une laie adulte de 62 kg, gestante, dont l'âge a pu être estimé à plus de 2 ans. Elle a été prélevée sur le lot 5, dans la parcelle 494 (dans la partie à l'extrême sud est de la forêt). La figure 19 indique le lieu précis où l'animal a été prélevé (représenté par une étoile rouge sur la carte).

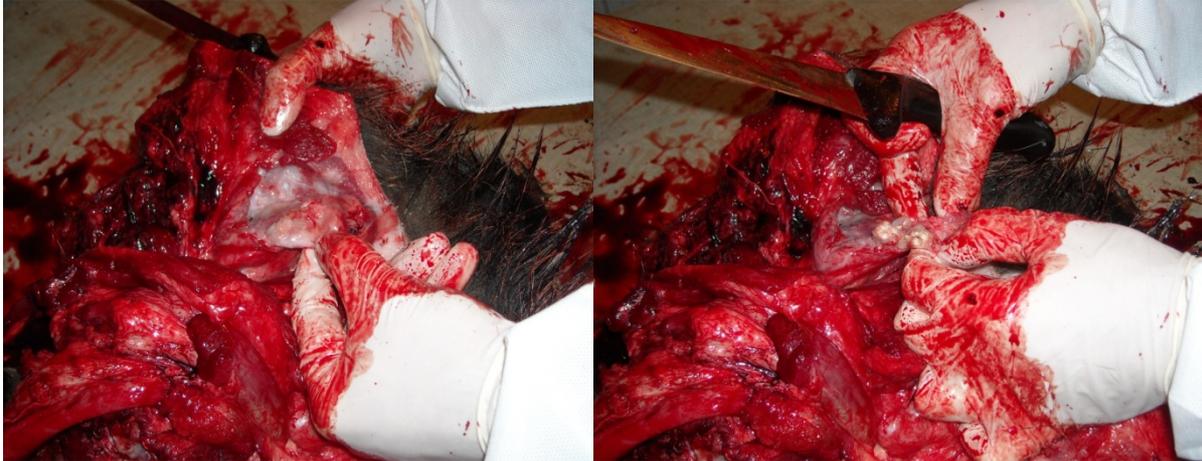
Figure 19. Localisation du sanglier suspect



L'examen a commencé par l'examen des nœuds lymphatiques céphaliques et plus précisément des nœuds lymphatiques sous mandibulaires. Le NL sous mandibulaire droit,

inspecté en premier était de taille normale mais présentait quelques nodules blancs calcifiés. Le NL sous mandibulaire gauche était quant à lui hypertrophié et présentait une calcification généralisée visible sur la figure 20. Les ganglions rétro-pharyngiens ainsi que les autres NL (pulmonaires et mésentériques) étaient par contre normaux.

**Figure 20.** Photos du nœud lymphatique sous mandibulaire gauche avant et après incision



Cette localisation des lésions est en conformité avec ce qui a pu être observé les années précédentes. A savoir des lésions limitées à un seul type de ganglions, le plus souvent céphalique et sans autre atteinte des autres organes. Le tableau 26 rappelle la localisation des lésions évocatrices de tuberculose lors des différentes campagnes entre 2005-06 et 2013-14.

### 3.1.3 Résultats des analyses de laboratoire

Il est rappelé qu'afin d'éviter les biais d'échantillonnage, les 205 sangliers qui ont fait l'objet de prélèvements pour analyses par culture ont été choisis de manière aléatoire parmi les 470 tués à la chasse.

**Un seul sanglier, l'animal suspect à l'inspection, s'est révélé infecté par *M. bovis*.**

La prévalence apparente d'infection s'élève donc à **0,48 %** [IC 95 ; 0,07 – 2,6 %].

#### Infection par d'autres mycobactéries

Parmi les 204 sangliers non infectés par *M. bovis*, 74 animaux étaient porteurs d'autres mycobactéries, dont :

19 par *Mycobacterium avium*

18 par *Mycobacterium sp.*

37 par des mycobactéries atypiques

## Corrélation entre infection et lésions

Contrairement aux années précédentes, la corrélation entre infection par *M. bovis* et lésions évocatrices est bonne puisque le seul animal porteur de lésions évocatrices de tuberculose s'est avéré être le seul infecté par *M. bovis*.

### Typage de la souche

Le spoligotype en cause est le même que celui isolé depuis 2001 chez les cerfs et sangliers de la forêt de Brotonne et bovins trouvés infectés dans les cheptels voisins. Il s'agit du spoligotype SB 0134 (GB 35), avec le même profil VNTR trouvé depuis 2001.

**Chez le sanglier, en 2012-2013, un seul sanglier, une laie adulte pesant 62 kg, sur 205 analysés a été trouvé porteur de *M. bovis* dans un ganglion céphalique, soit une prévalence apparente d'infection de 0,48 % [IC 95 ; 0,07 – 2,6 % ]**

## **3.2 Saison 2013/2014**

### **3.2.1 Inspection et prélèvements**

**Nombre et Sexe :** Parmi les 200 sangliers examinés et prélevés, figuraient 102 femelles, 91 mâles, et 7 animaux dont le sexe est inconnu (non mentionné par les chasseurs lors du dépôt des viscères).

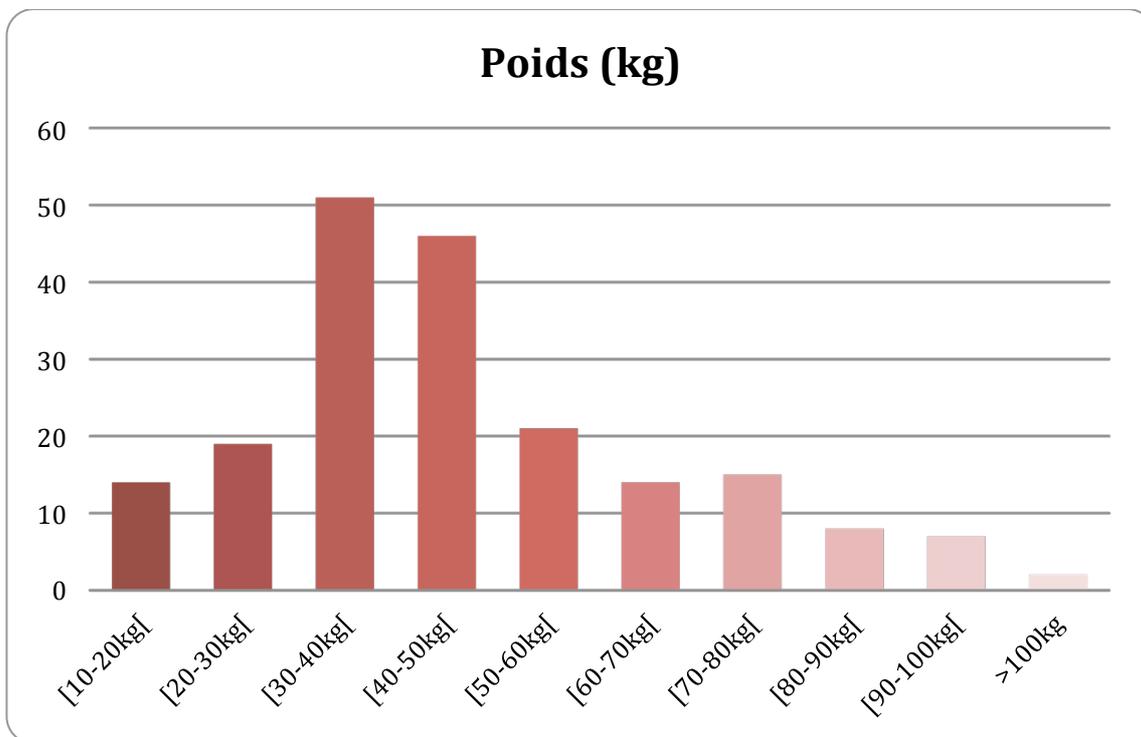
On ne note pas de différence significative (test du  $X^2$  ;  $p > 0,05$  ; Tableau 20) entre mâles et femelles dans l'échantillon prélevé, l'échantillon inspecté visuellement et la population générale (estimée à 50 % de mâles et de femelles).

**Tableau 20.** Répartitions des sangliers inspectés en fonction du sexe durant la saison 2013-2014

<b>Sexe</b>	<b>Nombre (%)</b>
<b>Mâles</b>	91 (47 %)
<b>Femelles</b>	102 (53 %)

**Poids et âge :** L'estimation de l'âge des animaux était réalisée à partir du poids de l'animal comme pour la saison précédente. Les 200 sangliers inspectés pesaient en moyenne 46 kg (Ecart-type : 15,8 ; Médiane : 44 kg ; Minimum : 10 kg ; Maximum : 123 kg ; Figure 21).

**Figure 21.** Répartition des sangliers inspectés en fonction de la classe de poids durant la saison 2013-2014



L'échantillon de sangliers inspectés était constitué d'une majorité de jeunes individus (<50 kg) (66 % vs 34 %,  $p < 0,05$  ; Tableau 21), ce qui est cohérent avec la composition classique d'un tableau de chasse de sangliers.

**Tableau 21.** Répartition des sangliers inspectés (prélevés ou non) en fonction des deux classes de poids durant la saison 2013-2014

Poids	Nombre de sangliers inspectés (%)
< 50kg	130 (66 %)
>= 50kg	67 (34 %)

**Lieu d'abattage :** Les 200 sangliers ont été abattus en forêt de Brotonne (Tableau 22).

**Tableau 22.** Nombre de sangliers inspectés et abattus dans chaque zone de la forêt durant la saison 2013-2014

Zone de la forêt de Brotonne	Nombre de sangliers inspectés	Nombre de sangliers tués
Forêt domaniale	<b>178</b>	<b>222</b>
Lot 1	28	
Lot 2	38	
Lots 3-4-5-6	106	
Lot 7	6	
Forêts communales	<b>9</b>	<b>19</b>
Saint Nicolas de Bliquetuit	0	
Notre Dame de Bliquetuit	3	
Vatteville la rue	6	
Bois privés 76-27	<b>13</b>	<b>64</b>
La Harelle	11	
Ste croix sur Aizier	2	

A ce tableau correspondant à la zone d'étude, s'ajoutent 98 sangliers tués en forêt de Mauny, non inspectée, ou hors chasse ou de manière occulte ou de marcassins pour arriver au tableau total déclaré par l'ONF de 403 animaux pour la saison 2013-2014

### 3.2.2 Tableau lésionnel

Les résultats sont présentés dans le tableau 23.

Dans la majorité des cas les lésions étaient limitées aux ganglions lymphatiques mais un sanglier présentait des lésions pulmonaires douteuses qui pouvaient correspondre à un abcès pulmonaire.

**Tableau 23.** Nombre de sangliers prélevés, inspectés totalement durant la saison 2013-14 et statut

Examen visuel des ganglions		Statut fonction des lésions observées	
<b>Complet</b>	197	Sain	179
		Douteux	1
		<b>Suspect</b>	<b>7</b>
<b>Incomplet</b>	3	Sains	1

Contrairement à la saison précédente, le nombre de prélèvements incomplets est beaucoup plus faible. Ceci est principalement du au fait qu'en 2012-2013, la majorité des prélèvements incomplets correspondaient à des cas où la tête était manquante. Or cette année, seuls les ganglions céphaliques étaient prélevés, d'où une plus forte sensibilisation des chasseurs à bien apporter la tête pour les prélèvements. Les cas restants de prélèvements incomplets sont en majorité dus à une impossibilité d'examiner l'ensemble des ganglions pour des raisons balistiques.

Au total, 7 sangliers suspects ont été prélevés lors de la saison 2013-14 contre 1 seul lors de la saison précédente.

Les lésions observées sur les animaux suspects sont décrites dans le tableau 24.

**Tableau 24.** Lésions observées sur les sangliers « suspects » lors de la saison 2013/2014

Date de la chasse	Sexe	Poids (kg)	Lot	Parcelle	Lésion
11/11/2013	♂	123	5	475	NL SM présentant un nodule caséeux de 2mm
22/12/2013	♂	44	4	257	NL SM hypertrophié avec lésion caséo calcaire de la majorité du ganglion
22/12/2013	♀	61	4	272	Nodules calcifiés sur les deux NL SM, suspicion d'abcès pulmonaire
22/12/2013	♂	38	4	257	Hypertrophie d'un NL SM, en majorité calcifié, nombreux nodules calcifiés présents
20/01/2014	♀	50	3	217	NL SM hypertrophiés et légèrement calcifiés
10/02/2014	♀	32	5	492	Un nodule calcifié de 5mm de diamètre dans un NL SM
16/02/2014	♂	88	4	283	NL SM hypertrophié avec un nodule caséo calcaire de 2-3cm de diamètre

NL = Nœud Lymphatique; SM = Sous-Mandibulaire ;

#### Prévalence lésionnelle apparente

Le même principe de calcul que lors de la saison 2012-2013 a été appliqué pour l'estimation de la prévalence apparente.

$7/(197) = 3,6 \% (IC_{95\%} : 1,0 \%-6,2 \%)$
--

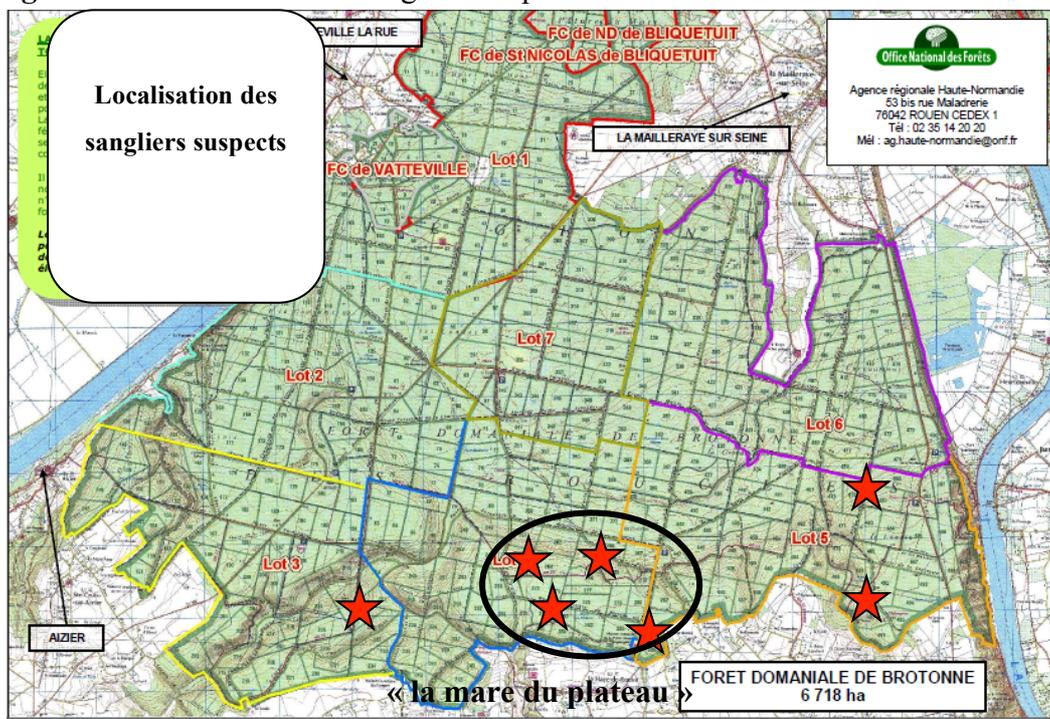
#### Description des animaux suspects :

Les 7 sangliers suspects présentaient tous des lésions restreintes aux nœuds lymphatiques mandibulaires à l'exception d'un animal qui présentait des lésions pulmonaires douteuses en plus de lésions des nœuds lymphatiques mandibulaires. Les lésions des NL mandibulaires étaient soit calcifiées soit caséo-calcaire avec dans un cas des foyers de nécrose associés à des calcifications (figure 23). Par contre les autres ganglions (rétropharyngiens, pulmonaires, médiastinaux ou mésentériques) ne présentaient aucune anomalies visibles à l'examen macroscopique.

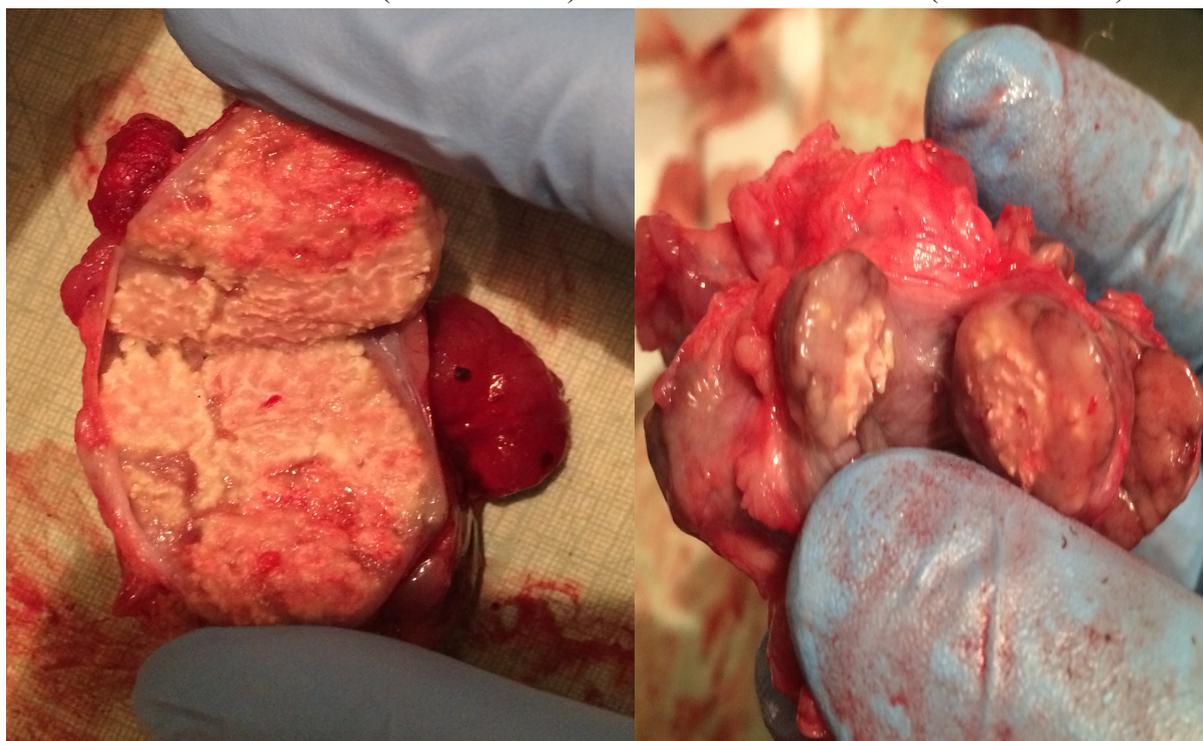
Parmi les animaux suspects figurent aussi bien des jeunes (n=3), de jeunes adultes (n=2) et des adultes (n=2), les mâles suspects sont au nombre de 4 contre 3 femelles.

Concernant la localisation des animaux suspects, ils sont toujours situés dans le sud de la forêt (figure 22) avec une concentration importante au niveau de la « mare du plateau » où 4 cas suspects ont été détectés dans un rayon de moins d'un kilomètre. Il est à noter également qu'un animal suspect a été prélevé dans une parcelle voisine de celle où avait été identifié le seul sanglier infecté par *M. bovis* lors de la saison précédente.

**Figure 22.** Localisation des sangliers suspects examinés lors de la saison 2013/2014



**Figure 23.** Photos de lésions au niveau de ganglions mandibulaires après incision. A gauche : lésion caséo-calcaire (BR-2014-086). A droite : lésion calcifiée (BR-2014-091)

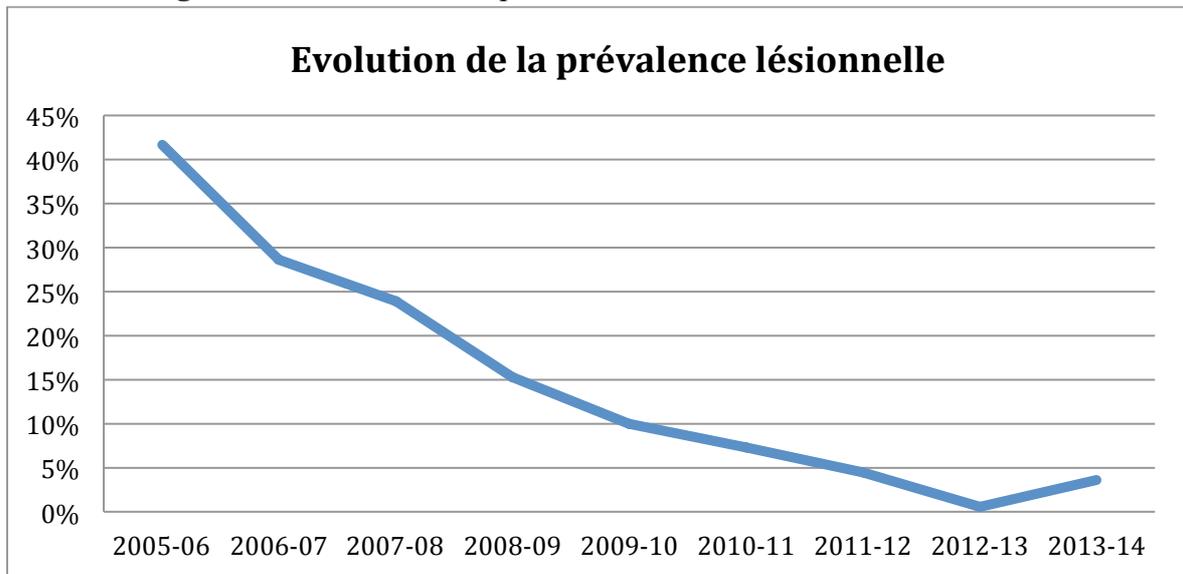


La prévalence lésionnelle apparente est significativement supérieure à celle de 2012-2013 (0,53 % ;  $p < 0,05$  ; Tableau 25, figure 24).

**Tableau 25.** Evolution de la prévalence lésionnelle de la tuberculose chez le sanglier entre 2005-06 et 2013-14

Saison de chasse	2005-06	2006-07	2007-08	2008-09	2009-10	2010-11	2011-12	2012-13	2013-14
<b>Prévalence lésionnelle</b>	41,7 % (65/156)	28,6 % (73/255)	23,9 % (48/201)	15,3 % (33/216)	10 % (14/138)	7,3 % (20/273)	4,5 % (10/221)	0,53 % (1/189)	3,6 % (7/197)

**Figure 24.** Evolution de la prévalence lésionnelle entre 2005 et 2014



La tendance à la baisse observée depuis quelques années avec seulement quelques cas résiduels semble s'être interrompue avec une aggravation du tableau lésionnel observée en 2013-2014. Toutefois, seules les analyses de laboratoires pouvaient permettre d'infirmer ou de confirmer cette supposée aggravation.

Les localisations lésionnelles sont conformes aux années précédentes avec un tableau dominé par des lésions fermées, le plus souvent stabilisées et restreintes aux nœuds lymphatiques céphaliques.

Le nombre d'animaux suspects semble montrer une aggravation de la situation chez le sanglier mais étant donné la mauvaise corrélation entre la présence de lésions évocatrices de tuberculose et l'infection par *M. bovis*, un tel constat nécessite d'être confirmé par des analyses de laboratoires.

Le tableau 26 rappelle la localisation des lésions évocatrices de tuberculose lors des différentes campagnes entre 2005-06 et 2013-14.

**Tableau 26.** Localisation des lésions observées chez les sangliers entre 2005 et 2014

Lésions (en %)	2005-2006 (n=65)	2006-2007 (n=73)	2007-2008 (n=48)	2008-2009 (n=33)	2009-2010 (n=14)	2010-2011 (n=22)	2011-2012 (n=10)	2012-2013 (n=1)	2013-2014 (n=7)
NL Rétropharyngiens	89 %	78 %	98 %	97 % (32/33)	43 % (6/14)	64 % (14/22)	30 % (3/10)	0 %	0 %
NL Mandibulaires	X	X	X	6 % (2/33)	X	23 % (5/22)	40 % (4/10)	100 %	100 % (7/7)
NL Pulmonaires	15 %	19 %	30 %	9 % (3/33)	14 % (2/14)	36 % (8/22)	30 % (3/10)	0 %	0 %
NL Mésentériques	13 %	15 %	30 %	6 % (2/33)	36 % (5/14)	14 % (3/22)	10 %	0 %	0 %
Lésions organiques	15 %	21 %	4 %	6 % (2/33)	21 % (3/14)	0 % (0/22)	0 % (0/10)	0 %	14% (1/7)

### 3.1.3 Résultats des analyses de laboratoire

**Cinq sangliers, tous porteurs de lésions se sont révélés infectés par *M. bovis*.** A noter que ces cinq sangliers ont été testé par PCR, quatre étaient positifs et un négatif mais infirmé par la culture.

La prévalence apparente d'infection s'élève donc à **2,5%** [IC 95 : 0,43 % – 4,57 %] (figure 26).

#### Infection par d'autres mycobactéries

Parmi les 195 sangliers non infectés par *M. bovis*, 44 animaux étaient porteurs d'autres mycobactéries, dont :

- 12 par *Mycobacterium avium*,
- 15 par *Mycobacterium sp*,
- 17 par *Mycobacterium nonchromogenicum*.

## 4. Chez le chevreuil

### 4.1 Inspections et prélèvements

Depuis 2001, un seul chevreuil a été identifié comme infecté par *M. bovis* confirmant le rôle mineur de cette espèce dans l'épidémiologie de la tuberculose, en conséquence nous avons décidé de regrouper les résultats des deux saisons et de les traiter ensemble.

Sur l'ensemble des deux saisons de chasse 128 chevreuils ont été inspectés, 67 lors de la saison 2012/2013 et 59 durant la saison 2013/ 2014. L'échantillon examiné comportait 51 mâles et 77 femelles soit 40 % de mâles contre 60 % de femelles, 42 jeunes et 86 adultes (soit 1/3 de jeunes contre 2/3 d'adultes). Les chevreuils inspectés pesaient en moyenne 18 kg (écart-type : 3,5 ; médiane : 18,5 kg ; minimum : 10 kg ; maximum : 27 kg). Cinq chevreuils étaient porteurs de lésions suspectes et ont fait l'objet de prélèvement, 3 sur 2012/2013 et 2 sur 2013/2014. Tous les chevreuils inspectés proviennent de la forêt de Brotonne (Tableau 28) et peuvent être localisés grâce à la carte de la figure 12.

**Tableau 27.** Origine des chevreuils examinés lor des saisons 2012-2013 et 2013-2014

Lieu d'abattage	Prélevé	Non prélevé	Total
Lot 1	0	6	6
Lot 2	0	17	17
Lots 3-4-5-6	5	80	85
Lot 7	0	5	5
Notre Dame de Bliquetuit	0	4	4
Vatteville	0	1	1
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>123</b>	<b>128</b>

#### 4.2 Tableau lésionnel

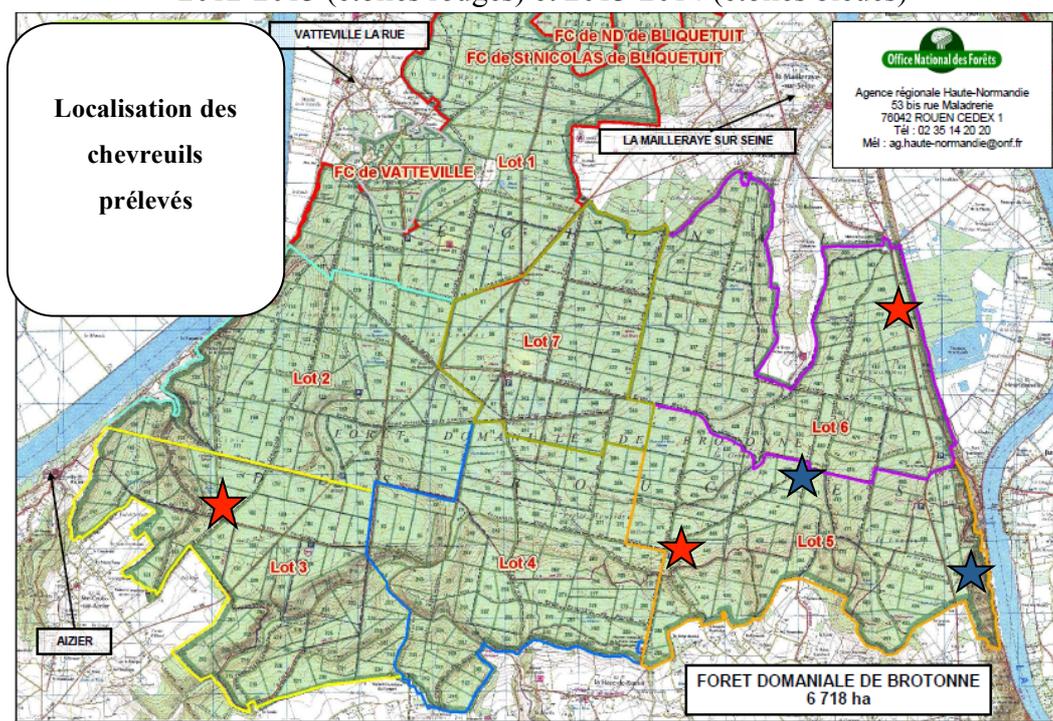
Les prélèvements ont concerné des nœuds lymphatiques mésentériques ou des lésions organiques (abcès) suspectes.

Ces 5 chevreuils provenaient de zones différentes de la forêt de Brotonne (figure 25), le lieu du prélèvement est représenté à l'aide d'une étoile rouge pour 2012-2013 et bleue pour 2013-2014.

**Tableau 28.** Chevreuils ayant fait l'objet d'un prélèvement lors des deux saisons de surveillance

Date	Espèce	Sexe	Poids	Lot	Parcelle	Lésions observées
26/11/2012	Chevreuril	♂	13	3-4-5-6	405	NL hypertrophié, granuleux avec un liseré blanc mais non calcifié
28/12/2012	Chevreuril	♂	14	3-4-5-6	269	NL hypertrophié sans autre lésion apparente
06/01/2013	Chevreuril	♂	12	3-4-5-6	155	NL présentant des nodules indurés
25/11/2013	Chevreuril	♂	18	3-4-5-6	493	Amaigrissement marqué et abcès adhérents au rumen
23/12/2013	Chevreuril	♀	24	3-4-5-6	434	Métrite

**Figure 25.** Lieu d'abattage des chevreuils ayant fait l'objet de prélèvements lors des saisons 2012-2013 (étoiles rouges) et 2013-2014 (étoiles bleues)



4 % des chevreuils inspectés au cours de la saison ont donc présenté des lésions suspectes mais frustrées (localisées aux nœuds lymphatiques mésentériques, pas d'autres organes concernés) en 2012-2013.

### 4.3 Résultats des analyses de laboratoire

Les cinq chevreuils suspects n'étaient pas porteurs de *M. bovis*, ni d'aucune autre mycobactérie.

**Comme en 2010-2011 et 2011-2012, aucune infection tuberculeuse n'a été dépistée en 2012-2013 et 2013-2014 chez le chevreuil (sur la base de l'examen nécropsique et de l'analyse des animaux suspects) sur un échantillon représentant le tiers du tableau de chasse**

## 5. Chez le renard

Aucun objectif d'échantillonnage n'ayant été fixé en 2012-2013 ni en 2013/2014, la collecte « opportuniste » de cadavres s'est soldée par seulement 5 renards tués à la chasse ou trouvés morts en bord de route. Ces animaux ont été acheminés au laboratoire pour être autopsiés.

Aucun n'était porteur de lésions suspectes et n'a fait l'objet d'analyses bactériologiques

## 6. Chez le blaireau

### 6.1 Saison 2012/2013

Aucun objectif d'échantillonnage n'ayant été fixé en 2012-2013, la collecte « opportuniste » de cadavres s'est soldée par seulement quatre blaireaux tués à la chasse ou trouvés mort au bord de la route. Ces animaux ont été acheminés au laboratoire pour être autopsiés.

Aucun n'était porteur de lésions suspectes et les analyses bactériologiques étaient négatives.

### 6.2 Saison 2013/ 2014

Suite à la découverte d'un foyer de tuberculose dans un élevage situé sur la commune de La Mailleraye-sur-Seine lors de l'été 2013. En plus de la récolte opportuniste de cadavres, une campagne de piégeage a été organisée autour de l'exploitation et des différentes pâtures. Ceci a permis de prélever 17 blaireaux dont 11 par piégeage. L'ensemble de ces animaux a été conduit au laboratoire où une autopsie ainsi que des analyses bactériologiques systématiques ont été réalisées.

Un seul blaireau présentait des lésions calcifiées à l'autopsie mais aucun n'était infecté par *M. bovis*. A noter que deux blaireaux dont celui présentant des lésions étaient infectés par *Mycobacterium nonchromogenicum*.

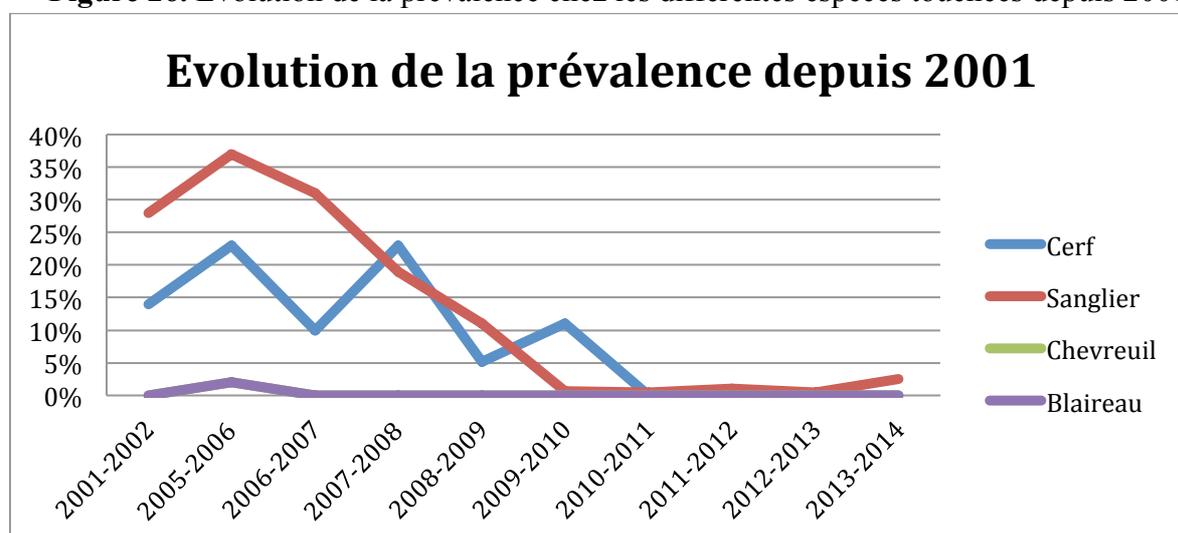
## 7. Bilan des résultats depuis 2001

Grâce à la collaboration des différents partenaires et à la présence sur le terrain d'un vétérinaire chargé d'examiner un maximum d'animaux tués à la chasse et d'effectuer les prélèvements prévus au protocole d'enquête, les principaux objectifs des programmes 2012-2013 et 2013-2014 de surveillance de la tuberculose en forêt de Brotonne ont été atteints. L'évolution des prévalences d'infection observées chez les animaux sauvages faisant l'objet d'une surveillance épidémiologique en forêt de Brotonne depuis 2001 apparaît dans le tableau 29 et sur la figure 26.

**Tableau 29.** Evolution des prévalences d'infection depuis 2001

Saison de chasse	2001-2002	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014
<b>Cerf</b> ( <i>Cervus elaphus</i> )	14 % (n=77)	23 % (n=145)	10 % (n=149)	23 % (n=44)	1 infecté /19	2 infectés /19	0 infecté /8	0 infecté /5	0 infecté /3	0 infecté /2
<b>Sanglier</b> ( <i>Sus scrofa</i> )	28 % (n= 84)	37 % (n= 155)	31 % (n= 255)	19 % (n= 199)	11 % (n= 200)	0,66 % (n= 150)	0,45 % (n= 220)	1 % (n=200)	0,48 % (n= 205)	2,5 % (n= 200)
<b>Chevreuil</b> ( <i>Capreolus capreolus</i> )	0 (n= 38)	1 (n= 53)	0 (n= 59)	0 (n= 53)	0 (n= 48)	0 (n= 61)	0 (n= 113)	0 (n=99)	0 (n= 67)	0 (n= 59)
<b>Renard</b> ( <i>Vulpes vulpes</i> )	NA	1 (n= 48)	NA	0 (n= 14)	0 (n= 21)	0 (n= 27)	0 (n= 52)	0 (n= 7)	0 (n= 5)	0 (n=0)
<b>Blaireau</b> ( <i>Meles meles</i> )	0 (n= 30)	1 (n= 55)	NA	NA	0 (n= 22)	0 (n= 15)	0 (n= 38)	0 (n= 3)	0 (n= 4)	0 (n= 16)

**Figure 26.** Evolution de la prévalence chez les différentes espèces touchées depuis 2001



**Chez le cerf**, aucun animal infecté n'a été détecté parmi les 16 animaux inspectés depuis 2010.

Vu la sensibilité de l'espèce à la tuberculose, l'absence d'animaux infectés, certes sur de petits échantillons, représente un résultat favorable. On ne peut pas totalement affirmer qu'il ne reste pas un ou des cerfs tuberculeux parmi les animaux « rescapés » de la forêt de Brotonne, mais l'on peut considérer aujourd'hui que les chasseurs ne pourront sans doute pas faire beaucoup mieux en termes d'élimination de l'espèce.

**Chez le sanglier**, le tableau de chasse est plus ou moins stabilisé autour de 400-450 animaux prélevés chaque année.

En termes de surveillance, on constate comme les années précédentes une forte adhésion au programme et une mobilisation des acteurs de terrain qui, grâce à un excellent travail d'équipe entre les partenaires (chasseurs, agents de l'ONF, ONCFS) et le vétérinaire de terrain, a permis d'examiner plus de 50 % du tableau de chasse sur la forêt de Brotonne.

La prévalence apparente d'infection de **2,5 %** [IC 95 : 0,43 – 4,57 % ] obtenue lors de la saison 2013-2014 n'est pas statistiquement différente de celle de 2012-2013 (**0,48 %** [IC 95 ; 0,07 – 2,6 % ]) ni des 3 autres années, mais le résultat obtenu lors de la dernière campagne de surveillance est inquiétant du fait d'un retour à la hausse du nombre d'individus infectés avec notamment la présence de très jeunes individus touchés (chose déjà observée en 2011-2012).

## V. Discussion

### 1. Les prélèvements réalisés

Grâce à la collaboration et à la motivation de l'ensemble des partenaires présents sur le terrain, nous avons pu atteindre les principaux objectifs des programmes 2012-2013 et 2013-2014, à savoir examiner 200 sangliers, 50 chevreuils et le maximum de cervidés et blaireaux durant chacune des deux saisons de chasse.

Cette valeur élevée d'individus inspectés (40 à 50 % du tableau de chasse annuel) confère à notre étude une bonne puissance de détection.

Tout au long des deux saisons, les animaux inspectés et éventuellement prélevés ont été choisis de manière aléatoire, sans que l'âge, le poids, la présence de lésion ou tout autre facteur n'entre en ligne de compte dans la sélection garantissant ainsi la représentativité des différents échantillons vis à vis des animaux tués.

Une limite à cette représentativité réside dans le fait que l'investissement des chasseurs n'est pas uniforme dans tout le massif. En effet les locataires de la forêt domaniale et dans une moindre mesure des forêts communales sont très impliquées dans le bon déroulement des campagnes de prélèvements. Cette implication est nettement plus hétérogène en ce qui concerne les propriétaires ou adjudicataires de bois privés, qui plus est en forêt de Mauny où nous n'avons jamais réalisé de prélèvements en deux années de surveillance.

Etant donné la faible part de bois privés sur le massif de Brotonne et le vaste domaine vital du sanglier et du cerf (de l'ordre du millier d'hectares), il apparaît peu vraisemblable qu'un nombre significatif d'animaux infectés « échappent » à la campagne de prélèvements en restant cantonnés dans les bois privés. La situation est toutefois différente pour Mauny qui est un massif presque exclusivement privé et avec une certaine autonomie vis à vis du massif de Brotonne. Dans ces conditions, il semble difficile d'évaluer le statut sanitaire des animaux de la forêt de Mauny et il pourrait s'avérer dangereux d'extrapoler les résultats actuels concernant la forêt de Brotonne au massif de Brotonne-Mauny dans sa globalité.

Enfin, durant la saison 2013-14 nos prélèvements étaient moins « dépendants » de la forêt domaniale avec d'avantages d'animaux inspectés dans les forêts communales et privés. Des prélèvements ont d'ailleurs été réalisés à La Harelle, bois privé où la densité en sanglier est importante et qui est situé à proximité du foyer de tuberculose détecté durant l'été 2013.

Une bonne communication avec les chasseurs de Mauny et des autres bois privés jouxtant la forêt domaniale est donc nécessaire afin d'optimiser le fonctionnement des futures campagnes de prélèvements et de garantir la meilleure représentativité possible des échantillons.

## 2. Les méthodes d'examen

L'examen de la carcasse n'est pas toujours possible mais le sac contenant la tête et les viscères garantit *a minima* l'examen des ganglions céphaliques, pulmonaires et mésentériques ainsi que les organes associés. Ces ganglions sont les plus fréquemment atteints et leur examen systématique permet de limiter le risque de ne pas déceler un animal infecté.

Chez le cerf l'infection par *M. bovis* est susceptible d'atteindre de nombreux ganglions distincts (Duvauchelle, 2007). Les ganglions céphaliques, pulmonaires et mésentériques étaient donc systématiquement prélevés, même en l'absence de lésions visibles. Pour des raisons de coûts, les trois types ganglionnaires étaient broyés et mélangés en un pool mis en sauf en cas de lésion sur un site autre que les ganglions précédemment cités sur lequel une deuxième culture est réalisée.

Chez le sanglier, les mêmes ganglions étaient systématiquement inspectés mais étant donné le faible nombre d'animaux chez lesquels *M. bovis* a été isolé antérieurement sur les ganglions pulmonaires et / ou mésentériques, il a été décidé pour la saison 2012-13 de ne prélever de façon systématique que les ganglions céphaliques et pulmonaires et uniquement les ganglions céphaliques pour la saison 2013-2014. Le protocole 2013-2014 est d'ailleurs celui retenu pour le protocole national Sylvatub. Un tel procédé limite la dilution du pool ganglionnaire par des tissus apparemment sains.

### 3. Les résultats

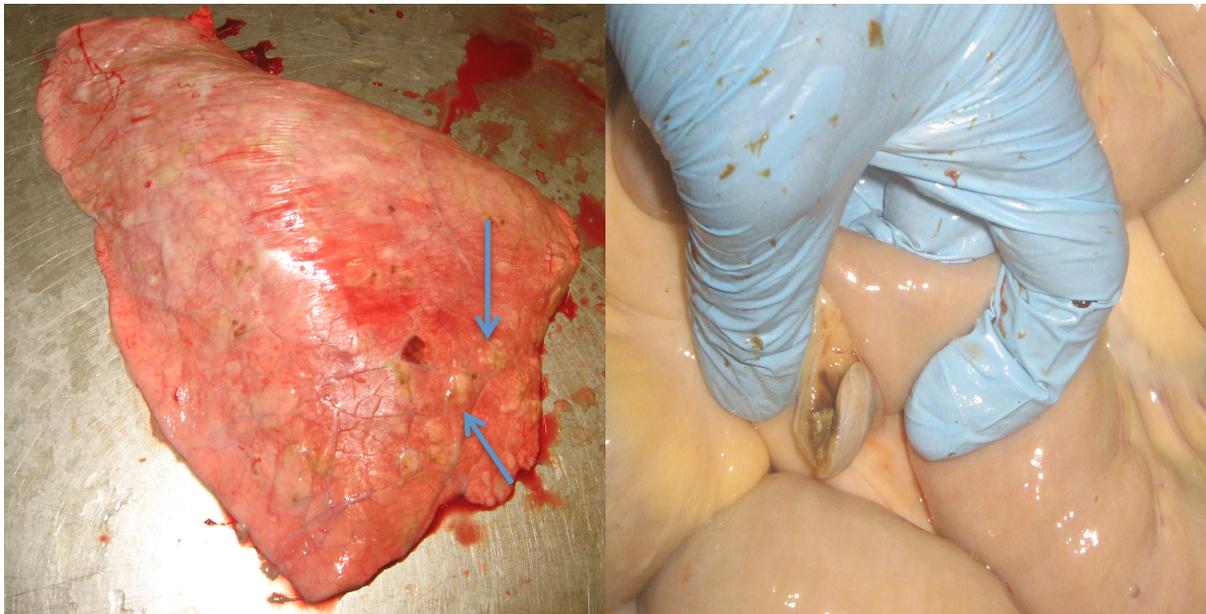
#### 3.1 Situation dans les élevages bovins à proximité

Pendant l'été 2013, un foyer de tuberculose bovine a été détecté sur la commune de la Mailleraye sur Seine suite à la découverte de lésions suspectes à l'abattoir. Les parcelles de l'exploitation sont représentées sur la figure 27, elles sont en majorités situées dans une zone marécageuse au nord est de la forêt de Brotonne, mais une parcelle plus isolée se situe dans une plaine enclavée dans le nord de la forêt.

Les bovins de cette exploitation étaient décrits comme particulièrement sauvages, quelques animaux s'étaient même échappés en forêt il y a quelques années et ont du être abattus car devenus totalement sauvages. Ces bovins ont donc pu être une source de contamination pour la faune sauvage.

Les agents chargés de la capture des animaux ont rencontrés de grandes difficultés à les regrouper et 5 animaux ont du être euthanasiés sur place car ils étaient trop sauvages pour être capturés. Au total, 98 animaux ont été abattus dont 93 qui ont pu être conduit à l'abattoir où des prélèvements de nœuds lymphatiques et de lésions ont été réalisés. Au total, 29 animaux présentaient des lésions parfois très avancées. Des photographies de lésions prises à l'abattoir sont visibles sur la figure 27. Après analyses de laboratoires, 24 soit 24,5 % des animaux de l'exploitation étaient infectés par la même souche (GB0035) que celle identifiée chez les sangliers et cervidés en forêt de Brotonne.

**Figure 27.** Lésions observées lors de l'abattage total. A gauche : lésions pulmonaires, à droite : lésions d'un NL mésentérique



Un tel taux de prévalence ainsi que le tableau lésionnel, suggèrent une contamination ancienne de l'exploitation, de l'ordre de plusieurs années. L'enquête épidémiologique menée n'a pas permis de conclure quant à l'origine de la contamination, une contamination à partir de la faune sauvage constitue une hypothèse non négligeable.

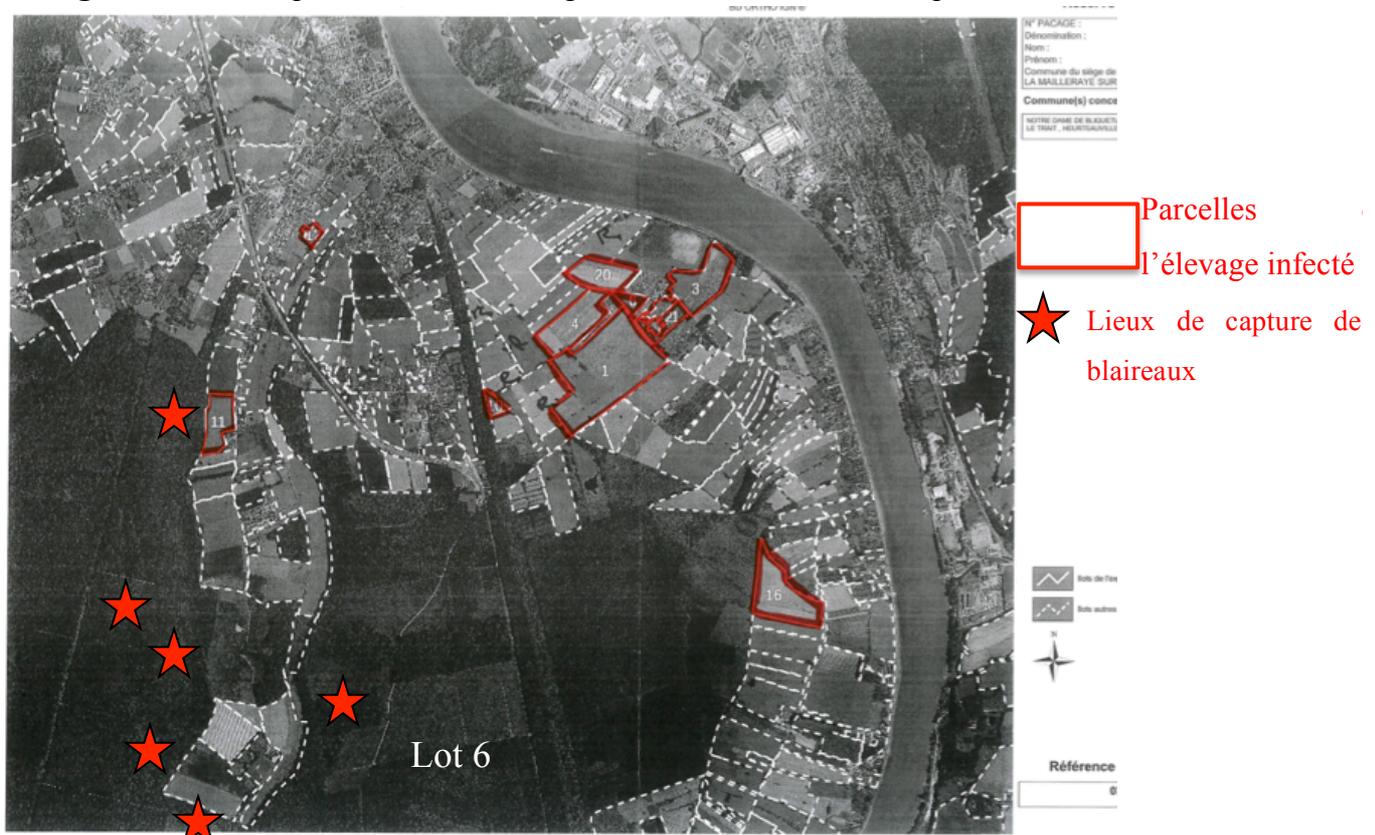
La fréquence des prophylaxies dans les élevages bovins en périphérie de la forêt de Brotonne a été renforcée pour les cinq prochaines années, à l'heure actuelle aucun autre foyer bovin n'a été identifié à proximité de la forêt de Brotonne.

Au cours de ces dernières années *M. bovis* a circulé abondamment au sein de cette exploitation, mais a pu également contaminer d'autres animaux en dehors de l'élevage. A l'heure actuelle aucun autre foyer bovin n'a été identifié mais étant donné la localisation des parcelles à proximité immédiate de la forêt de Brotonne et le vagabondage de certains animaux, il est tout à fait possible que ce foyer soit à l'origine d'une contamination des sangliers expliquant l'augmentation de la prévalence constatée durant la saison 2013-2014.

### 3.2 Situation chez le blaireau

Suite à la découverte du cas de tuberculose bovine, une campagne de prélèvements de blaireaux autour des parcelles de l'exploitation a été réalisée pour compléter les animaux collectés lors de la mortalité occasionnelle liée à des accidents de la voie publique ou bien lors de chasse à tir. Toutefois, la majorité des parcelles de l'exploitation bovine infectée est située dans un milieu marécageux, désertés par les blaireaux, seuls les bois situés autour de la parcelle du val rebours, enclavée dans la forêt de Brotonne sont fréquentées par les blaireaux (figure 28). Ainsi l'intégralité des prélèvements de blaireaux a été réalisée à proximité de cette seule parcelle.

**Figure 28.** Relevé parcellaire de l'élevage bovin infecté et lieu de capture des blaireaux



Au total, 20 blaireaux ont été examinés et analysés sur l'ensemble des deux saisons dont 11 lors de la campagne de piégeage à proximité de l'exploitation bovine infectée. Aucun

blaireau n'était infecté par *M. bovis*. La situation chez le blaireau semble stable, confirmant le rôle marginal joué par cet espèce dans l'épidémiologie de la tuberculose en forêt de Brotonne. Le fait de ne pas trouver de blaireaux infectés à proximité de l'élevage bovin infecté malgré les taux de prévalence très importants paraît étonnant, cependant une raison pourrait être l'absence de blaireaux autour de la majorité des parcelles de l'élevage. La présence de blaireau n'a été détectée qu'autour d'une seule parcelle de l'élevage bovin infecté.

### 3.3 Situation chez les cervidés

Au cours des deux saisons de surveillance, aucun des 5 cervidés que nous avons examinés et prélevés ne présentait de lésions évocatrices de tuberculose et les cultures se sont révélées négatives. Ceci confirme la tendance amorcée depuis la saison 2010-11, à savoir un bon assainissement au sein de la population résiduelle de cervidés. En effet plus aucun cerf n'a été identifié comme infecté par *M. bovis* depuis 2010-11 (sur 18 animaux au total). Étant donné la taille de la population résiduelle et le peu de prélèvements associés, il est impossible d'exclure statistiquement la persistance ou l'absence d'un ou plusieurs cerfs infectés dans la forêt. En effet, chaque année le faible nombre d'animaux prélevés ne permet que de réaliser une estimation très large de la prévalence : par exemple pour 2012-2013 avec 3 cerfs négatifs sur une population d'une dizaine d'individus, la prévalence estimée était inférieure à 30 %...

On notera par ailleurs les résultats négatifs obtenus lors des inspections et analyses réalisées sur les cervidés éliminés à l'intérieur ou à proximité du parc de Mauny qui ne contient maintenant plus d'animaux : ce problème semble donc réglé.

Le nombre stable de prélèvements (entre 2 et 5) par saison depuis quelques années montre à quel point il est difficile d'éliminer totalement une espèce sauvage d'un massif tel que celui de Brotonne bien qu'il soit relativement compact et d'une superficie raisonnable. Il sera vraisemblablement extrêmement difficile voire impossible d'obtenir un meilleur résultat avec une population estimée à 10-15 individus. En effet des naissances ont encore lieu chaque année, des biches accompagnées de leur faon sont régulièrement vues par les chasseurs, compensant numériquement les prélèvements.

### 3.4 Situation chez les sangliers

Lors des deux saisons de chasse, nous avons chaque année pu atteindre l'objectif consistant à inspecter et prélever de manière systématique, 200 sangliers pour un tableau de chasse semblant se stabiliser autour de 400-450 animaux. Au cours de ces deux saisons, l'ensemble des animaux suspects présentait des lésions localisées aux nœuds lymphatiques mandibulaires. Cette localisation est conforme à ce qui a été observé précédemment en forêt de Brotonne mais également en Espagne où ce type de ganglions est atteint dans 92 % des cas chez le sanglier (Vicente *et al.*, 2007). À noter que dans notre cas, 6 sangliers sur les 8 suspects étaient effectivement infectés par *M. bovis* et aucun animal à part à l'autopsie ne s'est révélé infecté par *M. bovis*. Le faible nombre de cas ne permet pas d'étudier avec précision la corrélation entre la présence de lésions et l'infection par *M. bovis* mais l'examen de ces nœuds lymphatiques en particulier paraît donc essentiel dans la recherche de lésions évocatrices de tuberculose et pour l'isolement de *M. bovis*. Lorsque ces nœuds lymphatiques

mandibulaires ne peuvent être prélevés, car abimés par le trajet de la balle notamment, l'animal en question devrait être exclu de l'étude et non prélevé à moins que d'autres lésions soient visibles.

La localisation des lésions observées confirme également la nécessité de prélever systématiquement les ganglions céphaliques mais le prélèvement des autres NL (pulmonaires et mésentériques) paraît moins essentiel.

Les analyses de laboratoire ont permis de conclure à une prévalence apparente d'infection de **0,48 %** [IC 95 ; 0,07 – 2,6 % ] lors de la saison 2012/2013 contre **2,5 %** [IC 95 : 0,43 – 4,57 % ] lors de la saison 2013-2014.

La diminution de la prévalence observée chez le sanglier depuis 2005-2006 semble marquer un coup d'arrêt durant la saison 2013-2014 avec une augmentation inquiétante même si la prévalence lors de la saison 2013-2014 n'est pas significativement différente de celle de 2012-2013, d'autant plus que des animaux de tout âge étaient infectés, traduisant une contamination récente des plus jeunes.

Toutefois, l'examen de 400 animaux en deux saisons de chasse n'a pas révélé de lésions organiques majeures et seuls quelques individus présentaient des lésions plutôt stabilisées et restreintes aux NL mandibulaires. Les capacités excrétoires de *M. bovis* par des sangliers infectés paraissent donc limitées malgré une excrétion salivaire possible. Ainsi les résultats ont montré une exposition plus importante cette année des sangliers à *M. bovis*, potentiellement liée au foyer de tuberculose bovine identifié dans la zone. Toutefois, au vu du tableau lésionnel il apparaît peu probable que le sanglier puisse maintenir *M. bovis* à lui seul en forêt de Brotonne mais tant qu'une source d'infection persiste à proximité (cerf ou bovin), les sangliers continueront de s'infecter très facilement. La source résiduelle d'infection des sangliers ne peut être déterminée avec certitudes, mais un lien avec le foyer bovin peut fortement être suspecté même si les cinq sangliers infectés ont été retrouvés assez loin de ce foyer. De plus, durant les saisons de chasse 2011-2012, 2012,-2013 et 2013-2014, les 8 sangliers infectés étaient tous situés dans le sud de la forêt, y aurait il une source d'infection persistante dans cette zone où prédominent des bois privés où la surveillance est moins forte qu'en forêt domaniale ? Ou bien est ce simplement du au fait qu'au sud de la forêt les sangliers ont accès à une vaste plaine céréalière à l'origine d'une concentration des populations dans cette zone ?

La densité des sangliers en forêt de Brotonne, quoique difficile à évaluer, ne doit pas dépasser des seuils trop important au risque de favoriser l'émergence d'un réservoir à *M. bovis* au sein de la population de sangliers. Une valeur de densité avancée est de 10 sangliers / 100ha, seuil au delà duquel il y a un risque de constitution d'un réservoir chez le sanglier (Afssa, 2009). Ce seuil correspond environ à un tableau global de prélèvements de 450-500 animaux sur l'ensemble du massif de Brotonne. A noter que le tableau de chasse est stabilisé autour de cette valeur depuis la saison 2008-2009

Malgré l'aggravation observée au cours de la dernière saison de chasse, le rôle du sanglier dans l'épidémiologie n'est pour le moment pas remis en question, il continuerait de se comporter comme un hôte de liaison ou un cul de sac épidémiologique.

### 3.5 Situation chez les autres espèces

Aucun cas de tuberculose n'a été répertorié en 2012-2013 ni en 2013-2014 sur des échantillons certes très faibles pour le renard mais relativement conséquent pour le chevreuil. Parmi ces espèces, aucun cas n'a été observé depuis 2006 et le cumul des données acquises depuis cette date permet de continuer de considérer qu'elles restent marginales dans l'épidémiologie de la maladie en forêt de Brotonne.

## 4. Perspectives

Suite à la décision d'éliminer totalement les cervidés du massif de Brotonne-Mauny en 2007, une baisse spectaculaire de la prévalence a été observée chez les deux espèces les plus atteintes (le cerf et le sanglier). Cette stratégie, basée sur l'hypothèse du cerf « réservoir primaire », était donc la bonne mais la persistance de quelques cas dans la population de sanglier montre à quel point il est difficile d'éradiquer la tuberculose dans une population animale comme cela est le cas chez les bovins.

Ces résultats très encourageants sont à nuancer étant donné l'augmentation apparente et récente de la prévalence chez le sanglier durant la saison de chasse 2013-2014. Ces résultats montrent une augmentation de l'exposition des sangliers à *M. bovis* depuis quelques mois, voire quelques années, mais dont la source d'exposition ne peut être connue avec certitude. Un lien avec l'élevage bovin tuberculeux est suspecté mais le manque de recul ne permet pas de conclure. Une surveillance conforme à celle des années précédentes doit être maintenue afin de voir si, suite à l'élimination du foyer bovin, la prévalence diminue de nouveau, ce qui serait en faveur d'une contamination des sangliers à partir de ce foyer bovin.

Différents modèles ont été établis par Zanella afin d'évaluer l'évolution de la prévalence dans les années à venir selon divers paramètres dont l'éradication totale ou non des cervidés et le niveau de gestion des viscères. Le scénario le plus proche de la situation actuelle correspond à une éradication totale des cervidés avec une gestion « parfaite » à quasi parfaite des viscères. Dans ces deux scénarios, des cas d'infections par *M. bovis* persistent après 2025 (Zanella, 2007). A noter également que ces modèles n'intégraient pas une potentielle source bovine d'infection, qui constitue un facteur limitant de l'assainissement de la forêt de Brotonne. Les résultats de ces modèles illustrent à quel point l'élimination totale de *M. bovis* au sein de la faune sauvage de la forêt de Brotonne sera longue et difficile. Les efforts dans la gestion des viscères, la poursuite de l'éradication des cervidés et l'assainissement des troupeaux bovins tuberculeux doivent être maintenus afin de limiter au mieux l'exposition des sangliers à *M. bovis*, garantissant une diminution progressive du nombre d'individus infectés.

La question reste posée sur le devenir de la population résiduelle de cervidés (réduite à une grosse dizaine d'animaux), potentiellement plus sensible que la moyenne à *M. bovis* et dont l'élimination totale et définitive risque d'être impossible.

En l'absence de réintroduction de cervidés, il apparaît difficile voir dangereux de laisser la population de cervidés se reconstruire naturellement à partir de ce noyau où le taux de consanguinité risque d'augmenter très rapidement. En effet, très peu de cerfs mâles ont pu être observés dans la forêt d'où un risque élevé de faible diversité génétique.

Chez le sanglier, il a été démontré que selon le degré d'hétérozygotie d'un individu, ses capacités à lutter contre l'infection par *M. bovis* ne sont pas les mêmes. En effet, les individus présentant une faible diversité génétique semblent plus à même de d'être infecté par *M. bovis* et de développer des formes généralisées de tuberculose (Acevedo-Whitehouse *et al.* 2005).

Chez le cerf, une telle influence de la diversité génétique n'a pas été démontrée mais l'on peut supposer qu'elle existe également. Or en forêt de Brotonne, la population de cervidés, estimée à 500-600 individus en 2005-2006, peut être considérée comme indépendante et autonome des animaux des autres massifs depuis la mise en place de l'autoroute A13 au sud de la forêt en 1972 (Duvauchelle, 2007). De plus, les cervidés de ce massif se distinguent par leur petite taille que l'on ne retrouve pas chez les cerfs des autres massifs du département. Enfin, le comportement sexuel des cervidés avec des cerfs dominants mâles saillissant de nombreuses femelles dont potentiellement leur propre descendance constitue un risque important de consanguinité. Ainsi la population des cervidés de Brotonne, limitée à quelques centaines d'animaux sur un territoire non extensible et dont la morphologie est unique dans le département, devait présenter un degré d'hétérozygotie assez faible et qui a sans aucun doute encore plus diminué suite aux abattages massifs réalisés depuis 2001.

Depuis la décision d'éliminer les cervidés, de nombreux acteurs locaux militent pour une réintroduction de cervidés en forêt de Brotonne.

La réintroduction d'animaux une fois l'éradication de la tuberculose réalisée aurait l'avantage de rehausser les effectifs beaucoup plus rapidement qu'en laissant la population actuelle se régénérer seule ainsi que de diminuer le taux de consanguinité en apportant de la variabilité génétique.

Cependant, une réintroduction paraît encore prématurée étant donné les résultats observés chez le sanglier, en effet une source d'infection persiste en forêt de Brotonne et réintroduire une espèce aussi sensible que le cerf représente un risque trop important de réinfection pour la faune sauvage.

Une surveillance doit donc être maintenue afin de vérifier l'évolution de la prévalence chez le sanglier, aucune donnée bibliographique ne décrit une réintroduction de cervidés suite à une infection par *M. bovis* et les conditions nécessaires avant la réintroduction d'animaux sensibles sont difficiles à définir. Toutefois, une prévalence nulle sur les prélèvements réalisés sur les 5 espèces actuellement surveillées durant deux saisons de chasse consécutives devrait être une condition suffisante à la réintroduction de cervidés en forêt de Brotonne.

Si jamais les conditions nécessaires à la réintroduction de cervidés en forêt de Brotonne sont réunies et qu'une telle décision est prise, il sera nécessaire de veiller à ce que les densités restent inférieures à 3-5 cervidés / 100 ha, au risque de voir un réservoir se reconstituer (Afssa, 2009)

## CONCLUSION

En 2001, des cerfs infectés par *M. bovis* ont été détectés pour la première fois en France en forêt de Brotonne. L'enquête épidémiologique conduite en 2002 a mis en évidence une prévalence inquiétante chez le cerf (14 %) et le sanglier (28 %) justifiant une série de mesure visant à limiter l'expansion de *M. bovis* au sein de la faune sauvage ainsi qu'aux élevages domestiques à proximité. Une nouvelle étude épidémiologique, conduite en 2005-2006 a montré une aggravation apparente de la situation chez ces deux espèces. De plus, des cas d'infection par *M. bovis* ont été détectés chez un renard, un chevreuil et un blaireau. La situation semblait donc s'être dégradée malgré les mesures mises en œuvre. Suite à ce constat, le cerf a été considéré comme un réservoir de tuberculose et à ce titre son éradication a été décidée alors que le sanglier est considéré comme un hôte de liaison. Le rôle des autres espèces sauvages telles que le blaireau, le chevreuil et le renard reste marginal, ils sont considérés comme des culs-de-sac épidémiologiques.

Une surveillance épidémiologique a été maintenue afin de suivre le bon assainissement de la population résiduelle de cervidés, l'évolution de la situation chez le sanglier, le chevreuil et le blaireau. Nous avons participé à la surveillance lors des saisons de chasse 2012-2013 et 2013-2014. Lors de ces deux saisons de chasse, aucun cerf parmi les cinq prélevés ne s'est révélé infecté par *M. bovis*, confirmant le bon assainissement au sein de la dizaine de cervidés restant en forêt de Brotonne.

Chez le sanglier, la baisse spectaculaire de prévalence amorcée en 2008 s'est poursuivie jusqu'en 2012-2013 avec une prévalence réduite à 0,48 % [0,07 – 2,6 %]. Cependant, en 2013-2014 une recrudescence des cas d'infections à *M. bovis* chez le sanglier a été observée, au total 5 individus ont été trouvés infectés contre un seul lors de la saison précédente, portant la prévalence à 2,5 % [0,43 % – 4,57 %]. Le manque de recul ne permet pas de connaître avec précision les causes exactes de cette recrudescence de cas, mais un lien avec l'élevage bovin découvert en 2013 très fortement infecté par *M. bovis* à proximité de la forêt de Brotonne est suspecté.

Aucun cas d'infection n'a été détecté chez les autres espèces surveillées (chevreuil, renard et blaireau) confirmant le rôle marginal joué par ces espèces dans l'épidémiologie de la tuberculose.

Une surveillance doit être maintenue durant plusieurs saisons de chasse afin de vérifier si la situation s'améliore (ce qui pourrait confirmer un lien avec le foyer bovin identifié en 2013) ou continue de s'aggraver chez le sanglier (ce qui démontrerait la présence d'une source d'infection persistante soit au sein même de la population de sanglier, soit au sein d'autres espèces).

Les conditions nécessaires à la réintroduction du cerf ne sont pour le moment pas réunies, le risque de réinfection étant trop grand. Dans l'idéal une réintroduction ne pourra avoir lieu qu'après deux saisons de chasse sans animaux infectés par *M. bovis*, qu'il reste des cervidés en forêt de Brotonne ou non.

L'exemple de la forêt de Brotonne montre à quel point il est difficile d'assainir une population d'ongulés sauvages une fois qu'un réservoir de tuberculose s'y est constitué. Treize années après la découverte du premier cas, la situation s'est très nettement améliorée chez le cerf et le sanglier, mais des cas sporadiques sont toujours détectés chez les sangliers traduisant une exposition à bas bruit persistante des sangliers à *M. bovis*. Ces résultats sont en accord avec les

modèles épidémiologiques établis, certifiant que même en cas d'extermination totale des cervidés et d'une gestion parfaite des viscères, des cas sporadiques d'infection par *M. bovis* persisteraient possiblement après 2025.

En 2014, la forêt de Brotonne est le seul cas en France de la présence avérée d'un réservoir sauvage de *M. bovis*. Les difficultés soulevées quant à l'assainissement de ce massif pourtant d'une taille modeste soulignent bien l'importance qu'il y a à veiller à ce que d'autres réservoirs sauvages ne se constituent pas ailleurs en France. Une gestion nationale des viscères des animaux tués à la chasse devrait être instaurée, ainsi qu'une bonne maîtrise des populations d'ongulés sauvages.

# BIBLIOGRAPHIE

ACEVEDO-WHITEHOUSE K, VICENTE J, GORTAZAR C, HÖFLE U, FERNÁNDEZ-DE-MERA I, AMOS W. Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar. *Mol. Ecol.*, 2005, **14**, 3209–3217.

AFSSA. Avis du 3 mars 2009 sur l'évaluation du risque relatif à la tuberculose de la faune sauvage de la forêt de Brotonne. 2009, 1-17.

AFSSA. Avis du 11 mai 2010 relatif à une réévaluation des mesures vis à vis de la tuberculose de la faune sauvage dans le massif de Brotonne-Mauny. 2010, 1-8.

ANSES. Avis 2010 SA 0154 sur la tuberculose bovine et la faune sauvage. 2011, 1-119.

ARANAZ A, LIEBANA E, MATEOS A, DOMINGUEZ L, VIDAL D, DOMINGO M, *et al.* Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, **34**, 2734–2740.

BALSEIRO A, OLEAGA A, ORUSA R, ROBERTO S, ZOPPI S, DONDO A, *et al.* Tuberculosis in roe deer from Spain and Italy. *Vet. Rec.*, 2008, **164**, 468–470.

BARNES PF, CAVE MD. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. *N. Engl. J. Med.*, 2003, **349**, 1149–1156.

BARNETCHE T. Enjeux méthodologiques de l'analyse de marqueurs génétiques dans les études d'association de maladies multifactorielles : application à la polyarthrite rhumatoïde. Thèse université Paul Sabatier – Toulouse III , 2007.

BENET J. PRAUD A. La tuberculose animale. Polycopié des unités de Maladies Contagieuses des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises, Merial (Lyon), 100p. 2013.

BERNATCHEZ L, LANDRY C. MHC studies in nonmodel vertebrates: what have we learned about natural selection in 15 years? *J. Evol. Biol.*, 2003, **16**, 363–377.

BOUQUIER G. Contribution à l'étude de la gestion de la population de cerfs (*cervus elaphus*) de la pinatelle d'allanche (cantal, france). *Thèse Méd. Vét.*, Toulouse, 2003, n°67.

BOURNE FJ. Bovine TB: The Scientific Evidence. Final report of the independent scientific group (ISG) on cattle TB. 2007, 289p.

CARSTENSEN M, et DONCARLOS MW. Preventing the establishment of a wildlife disease reservoir: a case study of bovine tuberculosis in wild deer in Minnesota, USA. *Vet. Med. Int.*, 2011, **2011**, 1-10.

- CASSIDY JP. The pathogenesis and pathology of bovine tuberculosis with insights from studies of tuberculosis in humans and laboratory animal models. USA. *Veterinary Microbiology*, 2006, **112**, 151-161.
- CORNER LA, BARRETT RH, LEPPER AW, LEWIS V, PEARSON CW. A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory. *Aust. Vet. J.*, 1981, **57**, 537–542.
- CORNER LA. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. *Vet. Microbiol.*, 2006, **112**, 303–312.
- DE LISLE GW, BENGIS RG, SCHMITT SM, O'BRIEN DJ. Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Rev. - Off. Int. Epizoot.*, 1999, **21**, 317–334.
- DE LISLE G. Mycobacterial infections in pigs. 1994, **21**, 23–25.
- DONDO A, ZOPPI S, ROSSI F, CHIAVACCI L, BARBARO A, GARRONE A, *et al.* Mycobacteriosis in wild boar : results of 2000-2006 activity in North-Western Italy. *Epidemiol. et santé anim.*, 2007, **57**, 35–42.
- DUFOUR B, BOSCHIROLI M, HARS J. *Tuberculose bovine et faune sauvage - Rapport*. ANSES, 2011, 119p.
- DUVAUCHELLE A. La tuberculose chez le cerf élaphe (*Cervus elaphus*) et le sanglier d'Europe (*Sus scrofa*) dans la forêt de brotonne. Thèse Méd. Vet., Nantes, 2007, n° 9.
- FINE AE, BOLIN CA, GARDINER JC, KANEENE JB. A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the environment under natural weather conditions in Michigan. *Vet Med Int*, 2011. **2011**, 1-12.
- FITZGERALD SD, SCHMIT SM, O'BRIEN. The Michigan bovine tuberculosis problem. *In Proc Deer Branch NZVA: World Deer Vet Congress*, 2009, 122- 125.
- FNC. Annexe à la circulaire C/13/074- Surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage. 2013, 1-3.
- FOURNAISE G. Gestion du cerf élaphe (*Cervus elaphus*), du chevreuil (*Capreolus capreolus*) et du sanglier (*Sus scrofa*) en France métropolitaine à travers l'exemple des départements de l'Aisne et la Marne *Thèse Méd. Vét.*, Alfort, 2013, n°84.
- FROMEAUX C. Biologie et éthologie du sanglier d'Europe (*sus scrofa*). Gestion des populations. Prévention des dégâts. Thèse Méd. Vét., Nantes, 2001, n°50.
- FROTHINGHAM R. MEEKER-O'CONNELL W.A. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis*

complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology (Reading, Engl.)*, 1998, **144**, 1189–1196.

GALLAGHER J, CLIFTON-HADLEY RS. Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. *Res. Vet. Sci.*, 2000, **69**, 203–217.

GALLAGHER J, MUIRHEAD RH, BURN KJ. Tuberculosis in wild badgers (*Meles meles*) in Gloucestershire: pathology. *Vet. Rec.*, 1976, **98**, 9–14.

GORTAZAR C, VICENTE J, GAVIER-WIDÉN D. Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 779–780.

GORTÁZAR C, ACEVEDO P, RUIZ-FONS F, VICENTE J. Disease risks and overabundance of game species. *Eur. J. Wildl. Res*, 2006, **52**, 81–87.

GORTAZAR C, TORRES MJ, VICENTE J, ACEVEDO P, REGLERO M, DE LA FUENTE J, *et al.* Bovine Tuberculosis in Doñana biosphere reserve: the role of wild ungulates as disease reservoirs in the ast Iberian lynx strongholds. *PLoS ONE*, 2008, **3**, 1-8.

GRIFFIN JFT, MACKINTOSH CG. Tuberculosis in deer: perceptions, problems and progress. *The Veterinary Journal*, 2000, **160**, 202–219.

HADDAD N, DURAND B. Intérêt et limites des différentes techniques de caractérisation des isolats: exemple de la tuberculose. *Epidémiol. et santé anim.*, 2001, **39**, 43-57.

HADDAD N, OSTYN A, KAROUI C, MASSELOT M, THOREL MF, HUGHES SL *et al.* Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *J. Clin. Microbiol.*, 2001. **39**, 3623–3632.

HADDAD N, OSTYN A, KAROUI C. Le typage moléculaire des isolats de *Mycobacterium bovis* (la tuberculose bovine : une évolution contrastée). *Bull. GTV*, 2004, **23**, 323–330.

HARS J, BOSCHIROLI ML, BELLI P, VARDON J, COQUATRIX E, GARIN-BASTUJI B, *et al.* Découverte du premier foyer de tuberculose sur les ongulés sauvages en France. *Faune sauvage*, 2004, **261**, 29–34.

HARS J, RICHOMME C, FAURE E, RIVIERE J, BOSCHIROLI ML. Dix années de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage française et perspectives. *Bulletin Epidémiologique Santé Animale et Alimentation*. 2012, **52**, 2-6.

HARS J, BOSCHIROLI ML, DUVAUCHELLE A, GARIN-BASTUJI B. La tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez le cerf et le sanglier en France. Emergence et risque pour l'élevage bovin. *Bulletin de*

*l'Académie vétérinaire de France*. 2006, **159 (5)**, 393-403.

HARS J, RICHOMME C, RIVIERE J, PAYNE A, FAURE E, BOSCHIROLI ML. La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. Risques pour l'élevage bovin. *Bull. Acad. Vet. France*. 2013, **166 (3)**, 216-221

HARS J et TESNIERE C. Surveillance de la tuberculose chez les animaux sauvages de la forêt de Brotonne - Résultats de l'enquête épidémiologique 2012-2013. *In Bilan de la surveillance 2012-2013 en forêt de Brotonne*. Rouen, 31 Octobre 2012.

HARS J, TESNIERE C, GRIFFON-PICARD AM, PECQUERY M, RAMBAUD T, GARIN-BASTUJI B, *et al.* Programme de surveillance en 2012-2013 de la tuberculose chez les animaux sauvages de la forêt de Brotonne (Seine-Maritime et Eure). 2013, rapport final, 25 p.

HAUER A, COCHARD T, DE CRUZ K, KAROUI C, HENAULT S, BIET F, *et al.* Comparaison des souches de *Mycobacterium bovis* isolées en France en élevage et dans la faune sauvage grâce aux techniques d'identification moléculaire. *Epidémiol. et santé anim*, In press.

HENAULT S, KAROUI C, et BOSCHIROLI ML. A PCR-based method for tuberculosis detection in wildlife. *Dev. Biol. (Basel)*, 2006, **126**, 123–132; discussion 325–326.

JACKSON R, DE LISLE GW, MORRIS RS. A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, 1995, **43**, 346–352.

JENKINS HE, MORRISON WI, COX DR, DONNELLY CA, JOHNSTON WT, BOURNE FJ *et al.* The prevalence, distribution and severity of detectable pathological lesions in badgers naturally infected with *Mycobacterium bovis*. *Epidemiol. Infect.*, 2008, **136**, 1350–1361.

JUBB KVF, KENNEDY CK, PALMER N. Hematopoietic system in : *Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 5<sup>th</sup> ed., M. Grant Maxie, 2007, 606-616.

KERVERN M. Contribution à l'étude de la tuberculose dans les élevages de cervidés de l'ouest de la France. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 1994, n°42.

LITTLE TW, NAYLOR PF, WILESMITH JW. Laboratory study of *Mycobacterium bovis* in badgers and calves. *Vet. Rec.*, 1982, **111**, 550–557.

[Rapport-gratuit.com](http://Rapport-gratuit.com)  
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES 

LIVINGSTONE PG, HAVILL P, O'HARA PJ. *Mycobacterial infection in the possum*. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries Veterinary Investigation Project Report Summary. 1979.

LUGTON IW, WILSON PR, MORRIS RS, NUGENT G. Epidemiology and pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection of red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, 1998,

46, 147–156.

MACHACKOVA M. Wild boar (*Sus scrofa*) as a possible vector of mycobacterial infections: review of literature and critical analysis of data from Central Europe between 1983 to 2001. *Veterinary Medicine*, 2003, **48**, 51–65.

MACKINTOSH C, DE LISLE G, COLLINS D, GRIFFIN J. Mycobacterial diseases of deer. *N. Z. Vet. J.*, 2004, **52**, 163–174.

MADDOCK ECG. Further studies on the survival time of the bovine tubercle bacillus in soil, soil and dung, in dung and on grass, with experiments on feeding Guinea-pigs and calves on grass artificially infected with bovine tubercle bacilli. *J. Hyg.*, 1934, **34**, 372–379.

MARTÍN-HERNANDO MP, HÖFLE U, VICENTE J, RUIZ-FONS F, VIDAL D, BARRAL M, *et al.* Lesions associated with *Mycobacterium tuberculosis* complex infection in the European wild boar. *Tuberculosis*, 2007, **87**, 360–367.

MCILROY SG, NEILL SD, MCCracken RM. Pulmonary lesions and *Mycobacterium bovis* excretion from the respiratory tract of tuberculin reacting cattle. *Vet. Rec.*, 1986, **118**, 718–721.

MCINERNEY J, SMALL KJ, CALEY P. Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory. *Aust. Vet. J.*, 1995, **72**, 448–451.

MILLER R, KANEENE JB. Evaluation of historical factors influencing the occurrence and distribution of *Mycobacterium bovis* infection among wildlife in Michigan. *Am. J. Vet. Res.*, 2006, **67**, 604–615.

MORRIS RS, PFEIFFER DU, JACKSON R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Vet. Microbiol.*, 1994, **40**, 153–177. :

MURPHY D, GORMLEY E, COSTELLO E, O'MEARA D, CORNER LAL. The prevalence and distribution of *Mycobacterium bovis* infection in European badgers (*Meles meles*) as determined by enhanced post mortem examination and bacteriological culture. *Res. Vet. Sci.*, 2010, **88**, 1–5.

NARANJO V, GORTAZAR C, VICENTE J, DE LA FUENTE J. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Vet. Microbiol.*, 2008, **127**, 1–9.

NIEMINEN T, PAKARINEN J, TSITKO I, SALKINOJA-SALONEN M, BREITENSTEIN A, ALI-VEHMAS T *et al.* 16S rRNA targeted sandwich hybridization method for direct quantification of mycobacteria in soils. *J. Microbiol. Methods*, 2006, **67**, 44–55.

O'BRIEN DJ, SCHMITT SM, FITZGERALD SD, BERRY DE, HICKLING GJ. Managing the wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis* : the Michigan, USA, experience. *Vet. Microbiol.*, 2006,

112, 313–323.

PAKARINEN J, NIEMINEN T, TIRKKONEN T, TSITKO I, ALI-VEHMAS T, NEUBAUER P *et al.* Proliferation of mycobacteria in a piggery environment revealed by mycobacterium-specific real-time quantitative PCR and 16S rRNA sandwich hybridization. *Vet. Microbiol.*, 2007, **120**, 105–112.

PALMER MV, WATERS WR, WHIPPLE DL. Milk containing *Mycobacterium bovis* as a source of infection for white-tailed deer fawns (*Odocoileus virginianus*). *Tuberculosis*, 2002, **82**, 161–165.

PALMER MV. *Mycobacterium bovis* : Characteristics of Wildlife Reservoir Hosts. *Transbound Emerg. Dis.* 2013, **60**, 1–13.

PALMER MV, WATERS WR. Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis: what policy makers need to know. *Vet. Microbiol.*, 2006, **112**, 181–190.

PALMER MV, WATERS WR, WHIPPLE DL. Lesion development in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Vet. Pathol.*, 2002, **39**, 334–340.

PALMER MV, Whipple DL, WATERS WR. Experimental deer-to-deer transmission of *Mycobacterium bovis*. *Am. J. Vet. Res.*, 2001, **62**, 692-696.

PAYNE A. Rôle de la faune sauvage dans le système multi-hôtes de *Mycobacterium bovis* et risque de transmission entre faune sauvage et bovins. Etude expérimentale en Côte d’Or. Thèse Méd., Claude Bernard Lyon 1, 2014.

PHILLIPS CJ, FOSTER CR, MORRIS P, TEVERSON R. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Res. Vet. Sci.*, 2003, **74**, 1–15.

RASTOGI N, LEGRAND E, SOLA C. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev. - Off. Int. Epizoot.*, 2001, **20**, 21–54.

RENWICK AR, WHITE PCL, BENGIS RG. Bovine tuberculosis in southern African wildlife: a multi-species host-pathogen system. *Epidemiol. Infect.*, 2007, **135**, 529–540.

RHYAN JC, SAARI DA, WILLIAMS ES, MILLER MW, DAVIS AJ, WILSON AJ. Gross and microscopic lesions of naturally occurring tuberculosis in a captive herd of wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*) in Colorado. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992, **4**, 428–433.

RICHOMME C, BOSCHIROLI ML, HARS J, CASABIANCA F, DUCROT C. Bovine tuberculosis in livestock and wild boar on the Mediterranean island, Corsica. *J. Wildl. Dis.*, 2010, **46**, 627–631.

RODRIGUEZ JG, MEJIA GA, DEL PORTILLO P, PATARROYO ME, MURILLO LA. Species-specific identification of *Mycobacterium bovis* by PCR. *Microbiology*, 1995, **141**, 2131–2138.

- ROSARIO TR, DIB CC, ROXO E, PINHEIRO SR, VASCONCELLOS SA, BENITES NR. Evaluation of Polymerase Chain Reaction (PCR) for identifying *Mycobacterium bovis* isolates from the modified Middlebrook 7H11 agar thin layer technique. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2012, **71**, 753-756.
- SCHMITT SM, FITZGERALD SD, COOLEY TM, BRUNING-FANN CS, SULLIVAN L, BERRY D *et al.* Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. *J. Wildl. Dis.*, 1997, **33**, 749–758.
- SEGALÉS J, VICENTE J, LUJÁN L, TOUSSAINT MJM, GRUYS E, GORTÁZAR C. Systemic AA-amyloidosis in a European wild boar (*Sus scrofa*) suffering from generalized tuberculosis. *J. Vet. Med. A Physiol Pathol Clin Med*, 2005, **52**, 135–137.
- SIGURÐSSON J. Studies on the risk of infection with bovine tuberculosis to the rural population with special reference to pulmonary tuberculosis. *Acta tuberculosa Scandinavica*, 1945, **15**, 26-40.
- SMITH NH, CRAWSHAW T, PARRY J, BIRTLES RJ. *Mycobacterium microti* : more diverse than previously thought. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, **47**, 2551–2559.
- THOREL MF. Tuberculose. In *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail*, Coordinateurs : Lefèvre PC, Blancou J, Chermette R. 2003, **75**, 927-949 ;
- VARELLO K, PEZZOLATO M, MASCARINO D, INGRAVALLE F, CARAMELLI M, BOZZETTA E. Comparison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2008, **20**, 164–169.
- VICENTE J, HÖFLE U, GARRIDO JM, FERNANDEZ-DE-MERA IG, ACEVEDO P, JUSTE R *et al.* Risk factors associated with the prevalence of tuberculosis-like lesions in fenced wild boar and red deer in south central Spain. *Vet. Res.*, 2007, **38**, 451–464.
- VICENTE J, HÖFLE U, GARRIDO JM, FERNANDEZ-DE-MERA IG, JUSTE R, BARRAL M *et al.* Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 107–119.
- WRAY C. Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. *Vet. Bull.*, 1975, **45**, 543–550.
- ZANELLA G. Tuberculose bovine dans une population de cerfs et de sangliers sauvages : épidémiologie et modélisation. Thèse Méd., Paris XI, 2007.
- ZANELLA G, DUVAUCHELLE A, HARS J, MOUTOU F, BOSCHIROLI ML, DURAND B. Patterns of bovine tuberculosis lesions in wild red deer and wild board. *Vet. Rec.*, 2008, **163**, 43–47.



# Listes des figures et tableaux

**Figure 1.** Granulome tuberculeux, au centre : caseum, en périphérie : cellules épithélioïdes et des cellules géantes de Langhan's.

**Figure 2.** Répartition géographique des isolats et spoligotypes français. (À gauche) Nombre d'isolats et le nombre de spoligotypes par département. (À droite) spoligotype dominant par département.

**Figure 3.** Evolution des lésions circonscrites de tuberculose.

**Figure 4.** Lésions de nœuds lymphatiques de sangliers (a) : lésion calcifiée d'un NL mandibulaire (b) : lésion caséuse de NL mésentériques.

**Figure 5.** Lésions tuberculeuses généralisées chez le sanglier (a) au niveau du poumon (b) au niveau de la glande mammaire.

**Figure 6.** Lésions de tuberculose chez des cervidés (a) abcès pulmonaires (b) volumineux abcès mésentérique.

**Figure 7.** Niveau de risque dans l'ensemble des départements français pour la saison 2013-2014.

**Figure 8.** Rôle et interactions entre les différents partenaires intervenants dans le réseau Sylvatub.

**Figure 9.** Evolution des cas de tuberculose à *M. bovis* détectés chez les mammifères sauvages et dans les cheptels bovins en Côte-d'Or entre 2002 et 2010, et nombres d'animaux sauvages analysés par saison.

**Figure 10.** Localisation et date d'apparition des différents foyers de tuberculose au sein de la faune sauvage française.

**Figure 11.** Situation géographique des forêts de Brotonne et de Mauny.

**Figure 12.** Localisation des différents lots de chasse dans la forêt de Brotonne.

**Figure 13.** Localisation du parc de Mauny.

**Figure 14.** Evolution du tableau de chasse sanglier entre 2000 et 2012.

**Figure 15.** Etiquette de prélèvement à remplir par les chasseurs.

**Figure 16.** Etiquette à remplir par les personnes apportant un blaireau.

**Figure 17.** Lieu d'abattage des Cervidés abattus lors des saisons 2012-2013 (étoiles rouges) et 2013-2014 (étoiles bleues).

**Figure 18.** Répartition des sangliers inspectés en fonction de la classe de poids.

**Figure 19.** Localisation du sanglier suspect.

**Figure 20.** Photos du nœud lymphatique sous mandibulaire gauche avant et après incision.

**Figure 21.** Répartition des sangliers inspectés en fonction de la classe de poids durant la saison 2013-2014.

**Figure 22.** Localisation des sangliers suspects examinés lors de la saison 2013/2014.

**Figure 23.** Photos de lésions au niveau de ganglions mandibulaires après incision. A gauche : lésion caséo-calcaire (BR-2014-086). A droite : lésion calcifiée (BR-2014-091).

**Figure 24.** Evolution de la prévalence lésionnelle entre 2005 et 2014.

**Figure 25.** Lieu d'abattage des chevreuils ayant fait l'objet de prélèvements lors des saisons 2012-2013 (étoiles rouges) et 2013-2014 (étoiles bleues).

**Figure 26.** Evolution de la prévalence chez les différentes espèces touchées depuis 2001.

**Figure 27.** Lésions observées lors de l'abattage total. A gauche : lésions pulmonaires, à droite : lésions d'un NL mésentérique.

**Figure 28.** Relevé parcellaire de l'élevage bovin infecté et lieu de capture des blaireaux.

**Tableau 1.** Principales mycobactéries actuellement reconnues.

**Tableau 2.** Résumé des durées de survies de *M. Bovis* dans divers milieux.

**Tableau 3.** Synthèse des différentes voies d'excrétions chez les espèces concernées.

**Tableau 4.** Relation entre les caractéristiques de l'agent pathogène, de la maladie et des différents hôtes avec les concepts épidémiologiques de taux de reproduction de base (R0) et la taille critique de la population.

**Tableau 5.** Critères d'appartenance aux différents niveaux de risque.

**Tableau 6.** Volets de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage à appliquer en fonction du niveau de risque estimé.

**Tableau 7.** Nombre d'animaux analysés en Côte d'Or entre 2003 et 2010.

**Tableau 8.** Objectifs d'échantillonnage et protocole d'analyse prévus pour chaque espèce d'étude.

**Tableau 9.** Liste du matériel fourni par la DDPP et le LAVD76

**Tableau 10.** Nombre d'individus inspectés (prélevés ou non) par espèce lors de la saison 2012-2013.

**Tableau 11.** Nombre d'individus inspectés par espèce et en fonction du type de gestion de la forêt lors de la saison 2012-2013.

**Tableau 12.** Nombre d'individus inspectés (prélevés ou non) par espèce lors de la saison 2013-2014.

**Tableau 13.** Nombre d'individus inspectés par espèce et en fonction du type de gestion de la forêt lors de la saison 2013-2014.

**Tableau 14.** Données concernant les cervidés examinés et prélevés lors des saisons 2012-2013 et 2013-2014.

**Tableau 15.** Répartitions des sangliers inspectés en fonction du sexe durant la saison 2012-2013.

**Tableau 16.** Répartition des sangliers inspectés (prélevés ou non) en fonction des deux classes de poids durant la saison 2012-2013.

**Tableau 17.** Nombre de sangliers inspectés et abattus dans chaque zone de la forêt durant la saison 2012-2013.

**Tableau 18.** Nombre de sangliers prélevés, inspectés totalement durant la saison 2012-2013 et leur statut.

**Tableau 19.** Lésions observées sur le sanglier « suspect » lors de la saison 2012-2013

**Tableau 20.** Répartitions des sangliers inspectés en fonction du sexe durant la saison 2013-2014.

**Tableau 21.** Répartition des sangliers inspectés (prélevés ou non) en fonction des deux classes de poids durant la saison 2013-2014.

**Tableau 22.** Nombre de sangliers inspectés et abattus dans chaque zone de la forêt durant la saison 2013-2014.

**Tableau 23.** Nombre de sangliers prélevés, inspectés totalement durant la saison 2013-14 et statut.

**Tableau 24.** Lésions observées sur les sangliers « suspects » lors de la saison 2013/2014.

**Tableau 25.** Evolution de la prévalence lésionnelle de la tuberculose chez le sanglier entre 2005-06 et 2013-14.

**Tableau 26.** Localisation des lésions observées chez les sangliers entre 2005 et 2014.

**Tableau 27.** Origine des chevreuils examinés lors des saisons 2012-2013 et 2013-2014.

**Tableau 28.** Chevreuils ayant fait l'objet d'un prélèvement lors des deux saisons de surveillance.

**Tableau 29.** Evolution des prévalences d'infection depuis 2001.

## Liste des abréviations :

BAAR : Bacilles Acido-Alcool Résistants

CCS : *Critical Community Size*

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

DR : *Direct Repeat*

FDC : Fédération départementale des chasseurs

FNC : Fédération nationale des chasseurs

IDR : IntraDermoReaction

LDAV : Laboratoire Départemental Agro-Vétérinaire

LJ : Løwenstein-Jensen

LNR : Laboratoire National de Référence

MAC : *Mycobacterium Avium intraCellulare*

MTC : *M. Tuberculosis Complex*

NL : Nœud lymphatique

ONCFS : Office Nationale de la Chasse et de la Faune Sauvage

ONF : Office Nationale des Forêts

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

SM : Sous-Mandibulaire

TNF  $\alpha$  : Facteur  $\alpha$  de Nécrose Tumorale

USF : Unité Sanitaire de la Faune

VNTR : *Variable Number Tandem Repeat*

ZN : Ziehl-Neelsen

## Annexe 1 : Description des lésions observées chez les sangliers abattus durant la saison 2005-2006 en forêt de Brotonne

Age (ans)	Sexe	Isolement de <i>M. bovis</i>	Localisation des lésions macroscopiques							
			NL R	NL P et Méd	NL Més	NL Préhép	Poum.	Pl.	Foie	Autres
1	M	+	+	-	-*	-	-	-	-	-
1,5	F	+	+	-*	-	-	-	-	+	-
0,5	F	+	-	+*	+*	-	-*	-	-	-
1,5	M	-	-	-	-	-	+	-	-	-
0,5	M	M. atypique	+	-	-	-	-	-	-	-
2	F	+	+*	-*	-	-	-	-	-	-
3	M	+	-	+*	-	-	-	-	-	-
2	F	+	+	-	-*	-	-	-	-	-
2	M	+	+*	-*	+*	-	-	-	-	NL inguinaux*
1	M	+	+*	+*	+*	-	-	+	-	-
0,5	M	+	+*	-*	-	-	-	+	-	-
2,5	F	+	+*	-	-*	-	-	-	-	-
2,5	M	+	-	+*	-*	-	-*	-	-	-
0,5	F	+	+	-*	-*	-	-	-	-	-
2	M	M. atypique	+	-	-	-	-	-	-	-
0,8	F	+	+*	-*	-	-	-	-	-	-
0,4	F	M. atypique	-	-	-	-	-	-	-	arthrite
1	M	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
1,5	M	+	+*	-*	-*	-	-	-	-	-
1	M	+	+*	-*	-	-	-	-	-	-
3	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-
0,7	F	+	+	+*	-	-	-	-	-	-
1,3	F	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-	-*	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	+*	-	-	+*	+	-	-
0,5	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<1	F	+	+*	-*	-	-*	-*	-	-	-
0,5	M	+	+*	-	-*	-	-	-	-	-
0,5	M	+	+*	-	-*	-	-	-	-	-
5	M	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
4	F	+	+*	-	+*	-	-	-	-	-
0,5	M	+	+	-*	-*	-	-	-	-	-
1,5	M	M. atypique	+	-	-	-	-	+	-	-

Age (ans)	Sexe	Isolement de <i>M. bovis</i>	Localisation des lésions macroscopiques							
			NL R	NL P et Méd	NL Més	NL Préhép	Poum.	Pl.	Foie	Autres
0,5	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	M	+	+*	+*	-	-	-	-	-	-
1	M	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
1	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-*	-	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-	-	-	-	-	-	-
3	M	+	+*	-	-	-	-	-	-	péritonite
3	F	+	-*	-*	-	-	+	+	-	-
2,5	M	+	+*	-	+	-	-	-	-	-
4	M	+	+*	+	-*	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-	-*	-	-	+	-	-
0,5	F	+	+*	-	-	-	-	+	-	-
0,5	M	+	+*	-*	-*	-	-	-	-	-
2,5	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	M	-	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	+	+*	-	-	-	-	+	-	-
0,4	M	+	+*	-*	-	-	-	-	-	-
1	F	+	+*	-	+	-	-	-	-	-
3,5	M	+	+	-	-*	-	-	-	-	-
1	M	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	M	NA	+	+	-	-	+	-	-	NL préscap
1,5	F	NA	+	+	-	-	-	-	-	-
0,5	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	M	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
1,5	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
0,5	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
NC	NC	NA	+	-	-	-	+	-	-	-
0,5	M	NA	+	-	+	+	-	-	+	-
0,5	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
3	F	NA	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>42</b>	<b>59</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4</b>

+ = Présence ; - = absence

M= mâle ; F= femelle ; NL R= nœuds lymphatiques rétropharyngiens ; NL P et Méd= nœuds lymphatiques pulmonaires et médiastinaux ; NL Més= nœuds lymphatiques mésentériques ; NL Préhép= nœud lymphatique préhépatique ; Poum.= poumons ; Pl. = plèvres ; NL préscap.= nœud lymphatique préscapulaire ; NA= Non Analysé ; NC= Non Connu.

\* organe sur lequel *M. bovis* a été isolée

## Annexe 2 : Description des lésions observées chez les cerfs abattus durant la saison 2005-2006 en forêt de Brotonne

Age (ans)	Sexe	Isolement de <i>M. bovis</i>	Localisation des lésions macroscopiques								
			NL R	NL P et Méd	NL Més	NL Préhép	Poum.	Pl.	Foie	Autres	
9	M	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	Abcès cutané
3,5	M	+	-*	-*	-	-*	-	-	-	-	Abcès NL poplité* ; arthrite ; abcès sur articulation du genou*
5	M	+	-	+*	+*	+*	-	-	-	-	Rein
3	M	+	-	-*	+*	-*	-*	-*	+	-	Diaph* ; onglons déformés ; Réseau
5	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
4,5	M	+	-*	-	+*	-	-	-	+	-	Abcès : rate ; rumen ; diaph ; aorte ; m. interv.
4	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
7	M	+	+	+*	+	-*	-	-	-	-	-
3	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
4,5	M	+	-	-*	+*	-	-	-	-	-	-
1	F	M. atypiques	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3,5	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
4	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	Mammite
0,6	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Abcès cutané ; arthrite
2,5	F	+	-	-	+*	-	-	-	+	-	-
1,5	F	+	-*	-*	+*	-	-	+*	+	-	Abcès NL préscap.
3	F	+	-*	-*	+*	-	-	-	-	-	-
7	M	+	-	-*	+*	+*	+*	-	+	-	Abcès NL inguinaux*
5,5	M	+	+*	-	+*	+	+	+	+	+	Foie, abcès*
6	M	-	+	-	+	-	-	+	+	+	Abcès : NL iliaques ; cutané
2,5	F	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
3	M	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	-
1,5	M	+	+	-*	+	-	-	-	-	-	-
2	M	+	-	-	+*	-	-	+	+	-	-
0,5	F	+	+*	-*	-*	-	-	-	-	-	-
4	M	+	-	-	+*	+	-	-	-	-	-
4	F	NA	-	-	+	-	-	-	-	-	-
1,5	F	NA	-	-	+	+	-	-	-	-	-
1,5	F	NA	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3,5	M	NA	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	F	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	Mammite
4	M	NA	-	-	+	-	-	+	-	-	-
4,5	M	NA									Pas de description des lésions
4,5	M	NA	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3	F	NA							+		Abcès du gg mammaire
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>23</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>27</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>4</b>		<b>12</b>

+ = présence ; - = absence

M= mâle ; F= femelle ; NL R= nœuds lymphatiques rétropharyngiens ; NL P et Méd= nœuds lymphatiques pulmonaires et médiastinaux ; NL Més= nœuds lymphatiques mésentériques ; NL Préhép= nœud lymphatique préhépatique ; Poum.= poumons ; Pl. = plèvres ; NL poplité= nœud lymphatique poplité ; Diaph= diaphragme ; M. interv. = muscles intervertébraux ; NL préscap.= nœud lymphatique préscapulaire ; NA= Non Analysé

\* organe sur lequel *M. bovis* a été isolée



# BILAN DE TREIZE ANNÉES DE SURVEILLANCE DE LA TUBERCULOSE EN FORÊT DE BROTONNE - MAUNY

NOM : TESNIERE

Prénom : Charles

## Résumé

En 2001, le premier cas d'infection à *Mycobacterium bovis* chez des cervidés a été détecté en forêt de Brotonne. Les enquêtes épidémiologiques ont conclu que le cerf constituait un réservoir de *M. bovis* justifiant son éradication totale, tandis que le sanglier se comportait comme un hôte de liaison.

Treize années plus tard, une chute spectaculaire de la prévalence a été observée chez le sanglier ainsi qu'au sein de la population résiduelle de cervidés où aucun individu prélevé n'a été détecté infecté par *M. bovis* depuis 2010-2011. Chez le sanglier, la prévalence apparente était descendue à 0,48 % durant la saison de chasse 2012-2013, [IC 95 ; 0,07 – 2,6 %] mais en 2013-2014 elle était de 2,5 % [IC 95 : 0,43 – 4,57 %]. Chez les autres espèces, seuls un blaireau, un renard et un chevreuil ont été découverts comme infectés par *M. bovis* en treize années de surveillance.

Malgré la hausse observée en 2013-2014 les résultats restent globalement encourageants avec une très nette amélioration de la situation épidémiologique. La découverte d'un élevage bovin tuberculeux en 2013 pourrait expliquer l'augmentation de la prévalence chez le sanglier : une surveillance doit être maintenue chez le sanglier afin de suivre l'évolution durant les prochaines années.

Les conditions nécessaires à la réintroduction du cerf ne sont pour le moment pas réunies, le risque de réinfection étant trop grand. Dans l'idéal, une réintroduction ne devrait avoir lieu qu'après deux saisons de chasse sans animaux infectés par *M. bovis*, qu'il reste des cervidés en forêt de Brotonne ou non.

**Mots clés :** EPIDEMIOLOGIE, RESERVOIR, TUBERCULOSE, *MYCOBACTERIUM BOVIS*, FAUNE SAUVAGE, SANGLIER, *SUS SCROFA*, CERF, *CERVUS ELAPHUS*, FRANCE, BROTONNE

## Jury :

Président :

Directeur : Pr. DUFOUR B

Assesseur : Dr. ADJOU K

Invité : Dr. HARS J

# REVIEW OF THIRTEEN YEARS OF TB SURVEILLANCE IN THE FOREST BROTONNE - MAUNY

**SURNAME : TESNIERE**

**Given name : Charles**

## **Summary**

In 2001, the first case of *Mycobacterium bovis* infection in cervids has been detected in the forest of Brotonne. The epidemic investigation revealed that cervids were a reservoir of *M. Bovis*, which justifies its total eradication, whereas the wild boar acted like a non maintenance host.

Thirteen years later, a spectacular fall in prevalence concerning wild boars and cervids has been observed. In deer, no individual collected has been detected to be infected by *M. Bovis* since 2010-2011. For the wild boar, the apparent prevalence decreased to 0,48 % during the 2012-2013 hunting season. [IC 95 ; 0,07 – 2,6 %]. However, it increased to 2,5 % during the 2013-2014 hunting season. [IC 95 : 0,43 – 4,57 %]. Concerning the other species, only a badger, a fox and a deer have been detected to be infected by *M. Bovis* in thirteen years of surveillance.

Despite the increase observed in 2013-2014, the results stay globally encouraging with a clear improvement in the epidemiological situation. The discovery of a cattle breeding tubercular in 2013 could explain the increase of the prevalence concerning the wild boar. Surveillance should be maintained with wild boars in order to follow the evolution during the next years.

The conditions necessary for the reintroduction of deer are not fulfilled actually because the risk of reinfection is too high. Ideally, a reintroduction should have place after two hunting season without infected animals by *M.Bovis*, even if there are no longer cervids in the forest of Brotonne.

**Keywords** : EPIDEMIOLOGY, MAINTENANCE HOST, TUBERCULOSIS, *MYCOBACTERIUM BOVIS*, WILDLIFE, WILD BOAR, *SUS SCROFA*, DEER, *CERVUS ELAPHUS*, FRANCE, BROTONNE

## **Jury :**

President : Pr.

Director : Pr. DUFOUR B.

Assessor : Dr. ADJOU K.

Guest : Dr. HARS J.