

Gina Zanella⁽¹⁾, Benoît Durand⁽¹⁾, Jean Hars⁽³⁾, François Moutou⁽¹⁾, Bruno Garin-Bastuji⁽²⁾, Aurore Duvauchelle⁽³⁾, Marc Fermé⁽⁴⁾, Claudine Karoui⁽²⁾, Maria L. Boschioli⁽²⁾

⁽¹⁾ Unité Épidémiologie et ⁽²⁾ Unité Zoonoses Bactériennes, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France

⁽³⁾ Unité Sanitaire de la Faune, Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 5 Allée de Bethléem, 38610 Gières, France

⁽⁴⁾ Clinique vétérinaire, 637 rue de Verdun, 76480 Duclair, France

Premier foyer de tuberculose à *M. bovis* dans une population de cerfs et de sangliers sauvages en France

INTRODUCTION

La France est un État membre de l'UE officiellement indemne de tuberculose bovine depuis 2001 (Décision Commission, 2000). Aucun cas de tuberculose à *Mycobacterium bovis* n'avait été identifié chez des animaux sauvages, quand, au début de l'année 2001, des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose ont été observées chez trois cerfs élaphe (*Cervus elaphus*) tués à la chasse en forêt de Brotonne en Normandie. L'infection à *M. bovis* a été confirmée par culture. Une enquête épidémiologique a permis de vérifier la présence de la tuberculose à *M. bovis* chez les cerfs élaphe et les sangliers (*Sus scrofa*) pendant la saison de chasse 2001/2002. Des mesures de contrôle, telles que la réduction de la population de cerfs élaphe, l'interdiction de l'affouragement et la destruction des viscères ont été instaurées dès la fin de l'année 2002. Pendant la saison de chasse 2005/2006, une deuxième enquête

a été réalisée afin de suivre l'évolution de la maladie dans les espèces atteintes et de détecter son éventuelle transmission à d'autres espèces (Hars *et al.*, 2007).

Par ailleurs, la présence de l'infection chez les animaux sauvages s'est accompagnée d'une apparente augmentation de son incidence dans les cheptels bovins de la Seine-Maritime et de l'Eure.

La tuberculose à *M. bovis* a été décrite chez plusieurs espèces sauvages dans des pays où l'éradication de la maladie bovine est difficile (Muirhead *et al.*, 1974; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000; Delahay *et al.*, 2001; Simpson, 2002). Dans ce contexte, les objectifs de cet article sont de présenter:

- les résultats des enquêtes mises en œuvre pendant les saisons de chasse 2001/2002 et 2005/2006 dans les forêts de Brotonne et de Mauny, en Normandie;

- l'analyse du lien entre le foyer de tuberculose dans la faune sauvage et les foyers bovins au moyen du typage moléculaire ;
- l'évaluation du rôle épidémiologique joué par les différentes espèces impliquées dans le foyer de tuberculose à *M. bovis* dans les forêts de Brotonne et de Mauny ;
- les différents scénarios de contrôle de l'infection élaborés au moyen d'un modèle mathématique.

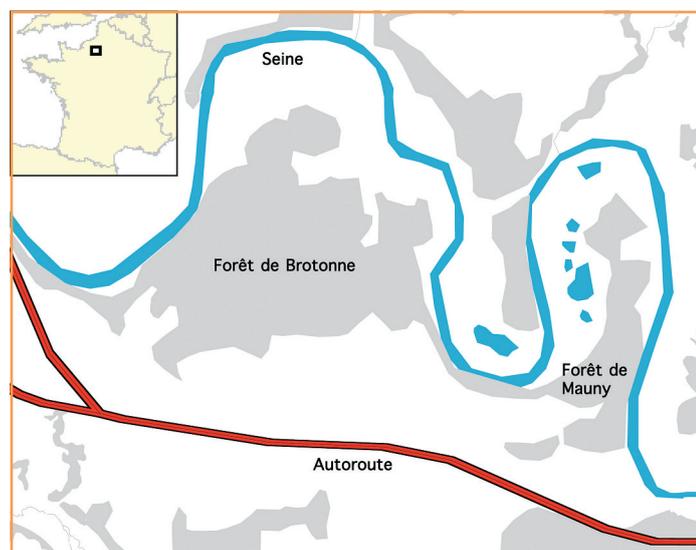


Figure 1: Situation géographique des forêts de Brotonne et Mauny (gris clair: forêt, bleu: la Seine et lacs, rouge: autoroute)

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La zone d'étude incluait la forêt de Brotonne (81 km²) et la forêt voisine de Mauny (10 km²) situées dans la région de Haute-Normandie, forêts entre lesquelles des échanges d'ongulés sauvages ont été constatés. Cette zone est située entre les boucles de la Seine et l'autoroute A13 (Figure 1). Les échanges d'animaux entre ces forêts et les forêts environnantes peuvent donc être considérés comme négligeables. Des élevages d'animaux domestiques, principalement de bovins, sont présents à proximité des deux forêts.

Lors de l'enquête menée pendant la saison de chasse 2001/2002, des tailles d'échantillons de cerfs élaphe, de chevreuils (*Capreolus capreolus*) et de sangliers ont été calculées afin de détecter une prévalence de la tuberculose à *M. bovis* dans chaque espèce d'au moins 3 % avec une confiance de 95 %.

Pendant la saison de chasse 2005/2006, il a été prévu de collecter tous les cerfs élaphe et 30 % des sangliers tués à la chasse. Afin de détecter l'infection chez d'autres espèces, des chevreuils, renards (*Vulpes vulpes*) et blaireaux (*Meles meles*) ont également été échantillonnés.

La prévalence de l'infection à *M. bovis* et la prévalence de la présence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose chez le cerf élaphe ont été calculées pour chaque saison de chasse.

Tableau I: Score de sévérité des lésions évocatrices de tuberculose

1. Pas de lésions visibles.
2. Lésions dans au moins un type de nœud lymphatique (rétropharyngien, pulmonaire⁽¹⁾ ou mésentérique) et pas de lésions au niveau des organes.
3. Lésions au niveau des organes sur un seul site (thorax, abdomen ou autres⁽²⁾) avec ou sans lésions dans les nœuds lymphatiques.
4. Lésions au niveau des organes sur au moins deux sites (thorax, abdomen ou autres⁽²⁾) avec ou sans lésions dans les nœuds lymphatiques.

⁽¹⁾ Inclut les nœuds lymphatiques trachéaux, bronchiques et médiastinaux.

⁽²⁾ Peau, glande mammaire, colonne vertébrale ou articulations des membres.

Les sangliers échantillonnés n'ont pas été sélectionnés aléatoirement car les chasseurs ont soumis plus souvent des animaux présentant des lésions macroscopiques lors de l'éviscération que des animaux sans lésions visibles. Pour cette raison, plutôt qu'une estimation ponctuelle, des bornes de cette prévalence ont été estimées en utilisant deux dénominateurs différents: pour la borne supérieure le nombre d'animaux échantillonnés, pour la borne inférieure le nombre d'animaux chassés.

Les données de l'enquête de la saison de chasse 2005/2006, pour laquelle une description détaillée du cadre lésionnel était disponible, ont été utilisées pour réaliser une étude comparative des profils de lésions macroscopiques entre les cerfs élaphe et les sangliers infectés. Dans ce but, la sévérité des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose a été quantifiée en utilisant le score présenté dans le tableau 1. En considérant que la proportion de sangliers sans lésions pouvait être biaisée du fait qu'ils n'avaient pas été sélectionnés aléatoirement, nous avons exclu le score 1 pour évaluer cette association.

Des techniques de typage moléculaire (spoligotypage, MIRU-VNTR) (Kamerbeek *et al.*, 1997; Skuce *et al.*, 2002) ont été appliquées à la totalité des souches de *M. bovis* isolées dans le cadre des enquêtes ainsi qu'aux souches isolées dans les foyers bovins des alentours des forêts de Brotonne et Mauny et dans d'autres sites de Normandie.

Un modèle déterministe, compartimental, à temps discret et qui tient compte tant de la transmission intra-espèce de la tuberculose que de sa transmission inter-espèce a été développé en ajustant les paramètres de transmission, afin de reproduire les résultats des enquêtes épidémiologiques. Ce modèle a été utilisé pour analyser de façon qualitative l'évolution possible de la situation épidémiologique en fonction de différents scénarios de mesures de contrôle portant à la fois sur le taux de mortalité et sur l'efficacité du ramassage des viscères des animaux chassés.

RÉSULTATS

Prévalences de l'infection à *M. bovis* et des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose

Chez le cerf élaphe, la différence des prévalences de lésions macroscopiques entre les deux enquêtes n'était pas significative (Tableau II). Par contre, la prévalence de l'infection a augmenté significativement d'une enquête à l'autre ($\chi^2 = 3,85$, $df = 1$, $p = 0,05$). Cette augmentation était plus marquée chez les adultes tandis que chez les jeunes la prévalence est restée stable (Tableau II).

Par ailleurs, lors de la deuxième enquête une association significative a été trouvée entre l'âge et l'infection à *M. bovis* (Tableau II): la prévalence chez les adultes a été presque le double de celle trouvée chez les jeunes ($\chi^2 = 6,07$, $df = 1$, $p = 0,01$).

Aucun lien n'a été trouvé dans les deux enquêtes entre le sexe et l'infection à *M. bovis*.

Chez le sanglier, les valeurs des bornes supérieures de la prévalence étaient plus élevées lors de la deuxième enquête (Tableau III). Des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose étaient présentes chez 29 % des animaux autopsiés lors de la première enquête et 42 % des animaux autopsiés lors de la deuxième enquête. Des lésions macroscopiques et des isolements de *M. bovis* ont été observés chez les jeunes, les adultes, les mâles et les femelles.

Seuls un chevreuil, un renard et un blaireau ont été trouvés infectés lors de la deuxième enquête sans lésions apparentes (Tableau III).

Étude comparative des lésions macroscopiques chez les cerfs et les sangliers

Les lésions de type purulent et caséux, concernant majoritairement les nœuds lymphatiques mésentériques, étaient prédominantes chez le cerf. Des lésions de forme nodulaire de 1 à 7 cm de diamètre ont été retrouvées au niveau des poumons. Aucune lésion calcifiée n'a été

Tableau II: Pourcentages de prévalence de lésions macroscopiques et de l'infection chez les cerfs élaphe par année d'enquête, classe d'âge et sexe

Saison de chasse	Classe d'âge (années)	Femelles			Mâles			Total avec		
		n	Lésions n (%)	Infection n (%)	n	Lésions n (%)	Infection n (%)	n	Lésions n (%)	Infection n (%)
2001/2002*	Juveniles (≤ 2)	13	1 (8,3)	0 (0,0)	13	3 (23,1)	3 (23,1)	27	4 (15,4)	3 (11,1)
	Adultes (> 2)	25	4 (16,7)	4 (16,0)	17	4 (26,7)	2 (17,8)	45	8 (19,1)	6 (13,3)
	Total	38	5 (13,9)	4 (10,5)	30	7 (25,0)	5 (16,7)	72	12 (17,7)	9 (12,5)
2005/2006	Juveniles (≤ 2)	27	6 (22,2)	4 (14,8)	32	2 (6,3)	4 (12,5)	59	8 (13,6)	8 (13,6)
	Adultes (> 2)	45	11 (24,4)	11 (24,4)	34	15 (44,1)	14 (41,2)	79	26 (33,0)	25 (31,7)
	Total	72	17 (23,6)	15 (20,8)	66	17 (25,8)	18 (27,3)	138	34 (24,6)	33 (23,9)

* Pas d'informations sur le sexe pour 4 animaux; pas d'information sur les lésions pour 2 mâles et 2 femelles.

Tableau III: Animaux chassés, échantillonnés et positifs pour *M. bovis*

Saison de chasse	Nombre d'animaux	Sangliers	Chevreaux	Blaireaux	Renards
2001/2002	Chassés	377	67	-	-
	Échantillonnés	85	38	0	0
	Positifs	25 (7 % - 29 %)*	0	0	0
2005/2006	Chassés	462	90	-	-
	Échantillonnés	155	53	55	49
	Positifs	65 (14 % - 42 %)*	1	1	1

* Bornes du pourcentage de prévalence.

observée. Une maladie généralisée, qui correspond au score 4, a été observée chez deux faons et quatre adultes (Tableau IV).

Chez le sanglier, les lésions macroscopiques ont été retrouvées principalement au niveau des nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens. Trois animaux ont présenté une induration très marquée de certains lobes pulmonaires. Un animal avait une petite lésion caséo-calcaire dans un poumon, mais aucun véritable abcès n'a été observé dans les poumons. Aucun animal n'a présenté de maladie généralisée (score 4) (Tableau IV).

Une association entre le score de sévérité de lésions (score 1 exclu) et l'espèce a été observée (test de Fisher, $p < 0,001$). La principale différence de score entre les deux espèces est due à l'absence de forme généralisée chez les sangliers (score 4). À l'inverse, la proportion d'animaux avec des lésions dans au moins un type de nœud lymphatique (score 2) était plus élevée chez les sangliers infectés (78 %) que chez les cerfs infectés (47 %).

Culture, méthodes d'identification et typage moléculaire

Toutes les souches isolées des animaux sauvages ont présenté le même spoligotype: SB0134. De plus, les souches des foyers bovins déclarés près des forêts de Brotonne et de Mauny et les souches de *M. bovis* isolées des animaux sauvages possèdent un profil MIRU-VNTR identique, identifié pour la première fois en 1995. Inversement, les souches d'autres sites de Normandie montrent des profils différents, avec au moins une différence sur deux loci (Tableau V).

Scénarios de contrôle

Le modèle mathématique a permis de montrer que le facteur qui a le plus d'influence sur le contrôle de l'infection était le ramassage des viscères. L'infection peut être totalement contrôlée lorsque ce ramassage est parfait, ce qui n'est plus le cas lorsqu'il est imparfait (ou *a fortiori* s'il n'était pas mis en œuvre). Le second facteur important pour le contrôle de l'infection est l'éradication de la population de cerfs: en l'absence de cerfs, le contrôle de l'infection peut être obtenu chez le sanglier, même si l'efficacité du ramassage des viscères n'est pas totale, ce qui est plus en accord avec les conditions de terrain.

Tableau IV: Nombre de cerfs élaphe et de sangliers par score lésionnel selon leur statut d'infection vis-à-vis de *M. bovis*

Score	Cerfs élaphe			Sangliers		
	Infectés	Non Infectés	Total	Infectés	Non Infectés	Total
1	3	107	110	15	76	91
2	14	1	15	39	11	50
3	10	2	12	11	3	14
4	6	2	8	0	0	0
Total	33	112	145	65	90	155

Le scénario le plus réaliste combinerait donc l'abattage de tous les cerfs avec un ramassage le plus efficace possible des viscères des animaux tués à la chasse.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats de cette étude montrent que la prévalence de l'infection à *M. bovis* était élevée dans la population de cerfs élaphe dans la zone et pendant la période étudiée. Si la prévalence chez les jeunes est considérée comme un indicateur de l'incidence d'infections récentes dans la population, l'absence d'augmentation chez les jeunes suggère que les mesures de contrôle mises en place ont pu avoir un certain impact. La proportion élevée de sangliers infectés dans les échantillons, les valeurs des bornes des prévalences et l'observation de lésions macroscopiques, même chez les animaux jeunes, indiquent dans l'ensemble que *M. bovis* circulait dans la population de sangliers.

D'après les résultats du typage moléculaire, on peut conclure qu'une seule souche était responsable du foyer dans la faune sauvage et que cette souche a circulé dans les élevages de bovins voisins depuis au moins 1995.

Tableau V : Profil MIRU-VNTR de souches bovines de *M. bovis* (spoligotype SB0134) de Normandie

Année	Nombre de foyers	Profil MIRU-VNTR*	Lien épidémiologique avec le foyer faune sauvage des forêts de Brotonne et de Mauny
1979	1	3 3 3 4 9 9 4 6	non
1983	1	3 4 5 7 10 11 3 5	non
1995	1	7 4 5 4 10 9 4 6**	oui
	1	2 4 5 4 10 9 3 6	non
1996	1	7 4 5 4 10 9 4 6	oui
	1	6 5 5 4 10 9 4 6	non
	1	4 5 5 4 10 9 4 6	non
1998	2	7 4 5 4 10 9 4 6	oui
1999	1	7 4 5 4 10 9 4 6	oui
2004	1	7 4 5 4 10 9 4 6	oui
2006	2	7 4 5 4 10 9 4 6	oui

* Dans l'ordre: locus ETR A, ETR B, ETR C, ETR D, QUB 3336, QUB 11a, QUB 11b et QUB 26.

** Le profil de la souche de la faune sauvage apparaît en gras.

La différence trouvée dans la distribution du score de gravité de lésions chez les cerfs élaphe et les sangliers indique que la maladie peut être plus grave chez les premiers que chez les seconds et ceci même chez les animaux jeunes. Les cerfs élaphe sont considérés moins résistants à *M. bovis* du fait de leur tendance à faire des abcès à paroi fine contenant du pus plutôt que des lésions classiques du type caséo-calcaire (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). Sur cette base, ils sont considérés comme des réservoirs primaires de *M. bovis* (Parra *et al.*, 2005). Dans notre étude, les prévalences élevées des lésions macroscopiques et de l'infection observées chez les cerfs élaphe, la prédominance d'abcès chez les animaux qui présentaient des lésions macroscopiques, la présence de lésions caséuses dans les poumons ainsi que des lésions de maladie généralisée, suggèrent le rôle important joué par le cerf élaphe dans la dissémination de l'infection dans les forêts de Brotonne et de Mauny. Ces résultats expliqueraient non seulement la dissémination intra-espèce de l'infection mais aussi sa propagation inter-espèces. En effet, on peut supposer que l'infection s'est propagée dans la population de sangliers avant la mise en place des mesures de contrôle, par la consommation de carcasses ou viscères infectés de cerfs laissés sur place par les chasseurs.

Il est probable que l'infection a été initialement transmise des bovins (le réservoir classique de la tuberculose à *M. bovis*) vers les cerfs élaphe, quand la prévalence de l'infection était élevée dans le bétail de la région, les cerfs et les bovins se côtoyant souvent sur les mêmes pâturages en lisière de la forêt de Brotonne.

En ce qui concerne le sanglier, la prédominance de lésions calcifiées dans cette espèce indiquerait une infection prolongée et chronique, ce qui suggère une réponse immunitaire appropriée et très peu de bacilles viables (Parra *et al.*, 2005). Porcs et sangliers seraient même capables de résorber des lésions (Corner *et al.*, 1981; McInerney *et al.*, 1995). Ces caractéristiques s'appliqueraient à des espèces dont le rôle dans la dissémination de l'infection n'est pas considéré comme essentiel. Dans notre étude, l'absence de maladie généralisée et les caractéristiques des lésions trouvées chez les sangliers iraient dans le même sens que cette observation. De ce fait, la propagation à partir de cette espèce vers d'autres espèces est probablement négligeable. Néanmoins, si l'on prend en compte que le nombre de sangliers infectés dans les échantillons est élevé, que les jeunes sont aussi infectés et l'isolement de *M. bovis* des lésions pulmonaires chez quelques sangliers, la dissémination intra-spécifique de l'infection ne peut pas être exclue.

Les très faibles prévalences constatées dans les populations de chevreuils et de renards indiquent que ces espèces sont probablement des hôtes accidentels.

Le modèle mathématique a permis de mettre en valeur le rôle important joué par les pratiques de chasse, notamment le non-ramassage des viscères, dans la transmission de la maladie dans les forêts de Brotonne et de Mauny. Il montre qu'en pratique, c'est l'éradication des cerfs élaphe et un ramassage le plus exhaustif possible des viscères qui donneraient les meilleurs résultats de contrôle. Cette prédiction pourra être validée par des résultats de terrain car un programme d'éradication des cerfs des forêts de Brotonne et de Mauny est en cours. D'après les résultats du modèle, nous sommes en mesure de conseiller aux responsables de la gestion sanitaire du foyer de veiller à ce que la prescription de ramassage des viscères lors de la chasse soit suivie afin qu'une pérennisation de l'infection chez le sanglier ne puisse pas se produire. Nous préconisons également la surveillance de l'évolution de la maladie chez les sangliers au moyen d'enquêtes qui permettront de suivre l'évolution de la prévalence. Afin d'éviter toute re-contamination, une éventuelle réintroduction du cerf élaphe ne pourra être envisagée qu'une fois la population de sangliers considérée comme indemne. Les résultats de la surveillance des sangliers pendant la saison de chasse 2006-2007 (31 % de prévalence de l'infection, Maeder, 2008) suggèrent que cet assainissement pourrait s'avérer long.

BIBLIOGRAPHIE

- Clifton-Hadley, R. S. and J. W. Wilesmith (1991). "Tuberculosis in deer: a review." *Veterinary Record* 129: 5-12.
- Corner, L. A., R. H. Barrett, *et al.* (1981). "A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory." *Australian Veterinary Journal* 57: 537-542.
- Delahay, R. J., C. L. Cheeseman, *et al.* (2001). "Wildlife disease reservoirs: the epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*Meles meles*) and other British mammals." *Tuberculosis (Edinburgh)* 81: 43-9.
- Décision de la Commission du 27 décembre 2000 modifiant pour la quatrième fois la décision 1999/467/CE établissant le statut de troupeau officiellement indemne de tuberculose dans certains États membres ou régions d'États membres. *Journal officiel des Communautés européennes* 11.1.2001, L 6/18-19.

Gallagher, J. and R. S. Clifton-Hadley (2000). "Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals." *Research in Veterinary Science* 69: 203-17.

Hars J., Boschioli M.-L., Duvauchelle A., *et al.* (2007). Emergence de la tuberculose bovine chez le cerf et le sanglier en France. Risque pour l'élevage bovin. *Bull. GTV* 40: 27-31

Kamerbeek, J., L. Schouls, *et al.* (1997). "Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology." *Journal of Clinical Microbiology* 35: 907-14.

Maeder S. (2008). Étude de la tuberculose chez le sanglier (*Sus scrofa*), réservoir de la tuberculose bovine ? Enquête épidémiologique 2006-2007 en forêt de Brotonne – Mauny (France). Thèse pour le doctorat vétérinaire, Maisons-Alfort. 121 p.

McInerney, J., K. J. Small, *et al.* (1995). "Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory." *Australian Veterinary Journal* 72: 448-451.

Muirhead, R. H., J. Gallagher, *et al.* (1974). "Tuberculosis in wild badgers in Gloucestershire: Epidemiology." *Veterinary Record* 95: 522-555.

Parra, A., A. Garcia, *et al.* (2005). "An epidemiological evaluation of *Mycobacterium bovis* infections in wild game animals of the Spanish Mediterranean ecosystem." *Research in Veterinary Science* 80: 140-146.

Simpson, V. R. (2002). "Wild animals as reservoirs of infectious diseases in the UK." *Veterinary Journal* 163: 128-46.

Skuce, R. A., T. P. McCorry, *et al.* (2002). "Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets." *Microbiology* 148: 519-28.