



Ecole nationale Vétérinaire d'Alfort

MASTER 2^{ÈME} ANNÉE

Santé publique Paris XI et Sciences et santé Paris XII

SPÉCIALITÉ

**SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES
MALADIES HUMAINES ET ANIMALES**

RAPPORT DE STAGE

**Détermination de profils de risque d'excrétion
à partir de foyers de tuberculose bovine en vue
de caractériser le risque d'exposition humaine**

Présenté par

Jean-Charles HUSSON

Réalisé sous la direction de : Pr Barbara DUFOUR – Dr Anne PRAUD

Organisme et pays : EpiMAI ENVA USC ANSES - FRANCE

Période du stage : 7 janvier 2013 – 27 juin 2013

Date de soutenance : 26 juin 2013

Année universitaire 2012 - 2013

REMERCIEMENTS

Un grand merci à Barbara Dufour et Anne Praud pour m'avoir encadré tout au long de ce stage, pour leurs multiples conseils en statistique et en épidémiologie ainsi que pour la correction détaillée et rapide de ce travail. Merci également à Benoit Durand et Mohamed El-Amine Bekara pour leur participation patiente dans ce projet.

Merci à Jean-Jacques Bénet pour m'avoir fait part sans compter de son savoir encyclopédique sur la tuberculose bovine ainsi que pour sa bonne humeur communicative.

Merci à Agnès, Julie, Véronique et Nadia pour les moments conviviaux que nous avons partagés entre deux portes à l'Unité de Maladie Contagieuse.

Merci également à tous mes co-masters 2 pour leur présence tout au long de cette année, c'est ici que s'achève l'aventure SEMHA, on se sera quand même bien amusé (si on oublie les dizaines d'heures passées sur l'enquête et le réseau 😊). On s'appelle !

Et enfin mes remerciements canins à Grigri pour m'avoir tenu compagnie dans mon petit bout de couloir quand sa propriétaire était en enseignement.

RÉSUMÉ

La tuberculose bovine est en recrudescence depuis une dizaine d'années dans certains départements français dont la Côte-d'Or. Face à l'augmentation du nombre de foyers de tuberculose bovine dans ce département, les éleveurs ont exprimé aux acteurs de la santé publique leur inquiétude relative à la transmission zoonotique de tuberculose bovine. Cette étude avait pour but de d'identifier des profils de risque d'excrétion de *Mycobacterium bovis* par les bovins en fonction des résultats aux tests de dépistage de la tuberculose bovine précédant immédiatement la découverte d'un foyer. Pour ce faire les résultats de dépistage de près de 9000 bovins de Côte-d'Or, appartenant à 93 foyers de tuberculose bovine déclarés entre 2010 et 2012, ont été étudiés. Ils ont été confrontés aux données d'abattage des bovins de ces foyers (nombre de bovins à lésions découverts, résultats d'examens complémentaire). Il est apparu que plus le nombre de réactions positives et douteuses à l'intradermotuberculation comparative était important, plus il y avait de risque de découvrir au moins deux bovins à lésions à l'abattage ou de suspecter une excrétion plus élevée dans le cheptel. Ces profils réactionnels prédictifs associés à des facteurs d'élevage peuvent permettre enfin de poser des hypothèses sur le risque d'exposition humaine.

SUMMARY

The prevalence of bovine tuberculosis is increasing since about ten years in some french department (Côte-d'Or, Dordogne...). Due to the increase of bovine tuberculosis outbreaks, some concern about a potential transmission from cattle to human has been claimed by breeders to the actors of public health. The aim of the following study was to identify some risk profiles of excretion of *Mycobacterium bovis* based on the results of cattle with screening tests. To do so we studied the results of 9000 animals from 93 outbreak farms in Côte-d'Or between 2010 and 2012. We confronted these data with data from slaughterhouses (number of bovines with lesions, complementary exam results). It appeared that the more doubtful or positive reactions to comparative intradermotuberculation are observed the more is the risk of discovering at least two bovines with lesions or suspecting a greater excretion in the herd. These reactional predictive profiles combined with management practice of the farm allow formulating some hypothesis on the exposition risk for the breeders working in the outbreak farms.

Table des matières

INTRODUCTION	6
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	7
1. LA TUBERCULOSE BOVINE ET SA PROPHYLAXIE EN CÔTE D'OR	7
1.1 <i>Situation épidémiologique en France et en Côte-d'Or</i>	7
1.2 <i>Prophylaxie actuelle de la tuberculose bovine en Côte-d'Or</i>	9
2. MODALITÉS D'EXCRÉTION DU BACILLE TUBERCULEUX PAR LES BOVINS	11
3. RELATION ENTRE EXCRÉTION ET LÉSIONS RETROUVÉES À L'EXAMEN POST-MORTEM	13
4. BILAN DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	16
DEUXIÈME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE	17
1. MATÉRIEL ET MÉTHODE	17
1.1 <i>Base de travail</i>	17
1.2 <i>Précisions sur les données</i>	17
1.3 <i>Logiciels</i>	18
1.4 <i>Tests et outils statistiques</i>	19
2. RÉSULTATS.....	20
2.1 <i>Description des données</i>	20
2.1.1 Typologie des élevages	20
2.1.2 Age des animaux.....	21
2.1.3 Résultats de prophylaxie	22
2.1.4 Résultats d'abattage.....	22
2.2 <i>Analyse des données</i>	24
2.2.1 Corrélation entre les réactions à l'IDC et le nombre de bovins à lésions	24
2.2.2 Corrélation entre les résultats d'interféron et le nombre de bovins à lésion	29
2.2.3 Corrélation entre le type de production et le nombre d'animaux à lésions	31
2.2.4 Corrélation entre la taille du cheptel et le nombre d'animaux à lésions	32
2.2.5 Analyse multivariée : régression logistique	32
3. DISCUSSION	33
CONCLUSION	37
BIBLIOGRAPHIE	38
ANNEXE 1 : CONDUITE À TENIR DANS LES ÉLEVAGES SOUMIS À L'IDC	41
ANNEXE 2 : COMMENT LIRE UN ARBRE DE CLASSIFICATION CHAID ?	412

Table des figures

Figure 1 : Evolution du pourcentage de prévalence instantanée au 31/12 des cheptels infectés par la tuberculose bovine en France, de 1954 à 2004 (coordonnées arithmétiques)	7
Figure 2 : Détail de l'incidence et de la prévalence de la tuberculose bovine de 1995 à 2011	7
Figure 3 : Evolution du nombre de foyers déclarés de tuberculose bovine entre 1991 et 2013 en Côte-d'Or	8
Figure 4 : Interprétation des résultats des animaux soumis à une IDC selon ΔB et ΔA	9
Figure 5 : Distribution des 65 foyers de l'étude en fonction de leur effectif total en bovin	20
Figure 6 : Distribution de l'âge des bovins à lésions tuberculeuses et des bovins sans lésions tuberculeuses dans les 93 foyers de l'étude	21
Figure 7 : Détail pour certaines classes d'âge de la distribution de l'âge des bovins à lésions tuberculeuses et des bovins sans lésions tuberculeuses dans les 93 foyers de l'étude	21
Figure 8 : Distribution des 65 foyers en fonction du nombre de résultats positifs, grand douteux et petits douteux obtenus par IDC durant le dépistage précédant l'APDI	22
Figure 9 : Distribution des 65 foyers en fonction du nombre de bovins à lésion retrouvés à l'abattage	23
Figure 10 : Délai entre le premier et le dernier bovin à lésion retrouvé à l'abattoir dans les foyers traités en abattage sélectif ou en abattage sélectif puis total entre 2010 et 2012	24
Figure 11 : Nombre de bovins à lésions retrouvés à l'abattoir dans les 65 foyers de l'étude en fonction du nombre de réactions non négatives à l'IDC	24
Figure 12 : Représentation graphique d'une analyse factorielle des correspondances menée sur les résultats d'IDC et les résultats d'abattoirs sur les 65 foyers de l'étude.....	26
Figure 13 : Arbre de classification des 65 foyers de tuberculose bovine selon le nombre de résultats petits douteux et positifs et grands douteux aux séries d'IDC précédant la mise sous APDI.	28
Figure 14 : Courbe ROC associée à l'arbre de classification sélectionné.	29
Figure 15 : Gradient de risque supposé d'exposition pour les éleveurs des foyers de tuberculose bovine déduit des profils réactionnels et des facteurs d'élevage	36

Table des tableaux

Tableau 1 : Nombre moyen d'animaux à lésion dans les 4 classes de foyers	27
Tableaux 2a, 2b et 2c : Associations brutes entre le nombre de réactions à l'IDC et le nombre de bovins à lésions. Les p indiqués proviennent de test de χ^2 ou de Fisher.	27
Tableau 3 : Nombre moyen de bovins à lésion dans les foyers en fonction des résultats obtenus suite au test de l'interféron gamma.	30
Tableau 4 : Données relatives à l'examen interféron en fonction des résultats obtenus à l'IDC	30
Tableau 5 : Association brute entre type de production et nombre de bovins à lésions	31
Tableau 6 : Association brute entre taille du cheptel et nombre de bovins à lésions	32

INTRODUCTION

La tuberculose bovine est une affection des bovins majoritairement due à *Mycobacterium bovis* dont les conséquences sont majeures (risque zoonotique, pertes économiques). Si historiquement, la transmission de cette maladie à l'Homme a été imputée à la consommation de lait cru (de la Rua-Domenech, 2006), l'émission d'aérosols par les bovins infectés est également une voie possible mais moins efficace. Ainsi, certaines professions en contact étroit avec les bovins sont connues comme particulièrement exposées à une infection éventuelle par *M. bovis* comme les vétérinaires, les employés d'abattoirs, les équarisseurs mais aussi les éleveurs (de la Rua-Domenech, 2006).

Aujourd'hui, la tuberculose bovine en tant que zoonose ne représente plus qu'une très faible proportion des cas de tuberculose humaine en France, dont l'agent étiologique principal reste *Mycobacterium tuberculosis*. Les cas humains de tuberculose à *M. bovis* ne représenteraient que 0.4% des cas de tuberculose déclarés en Europe. Néanmoins, malgré la faible prévalence apparente de cette zoonose, des inquiétudes sont nées dans les départements où la tuberculose bovine est en réémergence, en Bourgogne et dans le Sud-Ouest principalement. A l'heure où plus de 15 foyers sont découverts chaque année en Côte-d'Or depuis 5 ans (données DGAL), la Caisse Centrale de la Mutuelle Sociale Agricole s'est interrogée sur les modalités de la prévention de la zoonose chez les personnes en contact régulier avec les bovins (éleveurs principalement) et de la pertinence d'un plan de dépistage de la tuberculose chez ces dernières. Une étude est actuellement menée par le Centre de Lutte Anti Tuberculeux 21 pour déterminer si les éleveurs sont significativement plus à risque de développer la maladie. Parallèlement, la question sur les facteurs de risque de transmission de la maladie des bovins à l'Homme a été posée au laboratoire EpiMai ENVA USC ANSES. Pour répondre à cette question nous avons d'abord effectué une revue bibliographique des données actuelles concernant l'excrétion des bacilles tuberculeux par les bovins et l'éventuelle corrélation qu'il pourrait exister entre cette excrétion et les lésions des bovins retrouvées après abattage. Dans un second temps nous avons présenté les résultats obtenus à partir de la base de données de la DDPP de Côte-d'Or entre 2010 et 2012. Afin d'aider les acteurs de santé publique à évaluer le risque d'exposition dans les foyers, nous avons cherché à mettre en relation le nombre de bovins à lésions – donc potentiellement excréteurs - retrouvés dans chaque foyer avec les résultats de la campagne de prophylaxie précédant immédiatement la découverte du foyer et les facteurs d'élevage.

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La tuberculose bovine et sa prophylaxie en Côte d'Or

1.1 Situation épidémiologique en France et en Côte-d'Or

Dans les années 1950, environ un quart des troupeaux bovins étaient touchés par la tuberculose bovine, une affection due au bacille tuberculeux *M. bovis* qui atteint principalement les bovins mais qui peut aussi infecter l'Homme. Grâce à des efforts de lutte importants initiés en 1955, la France a été reconnue par l'Union européenne pays officiellement indemne de tuberculose bovine (décision 2001/26/CE du 27 décembre 2000) : pendant 6 ans, le pourcentage d'élevages infectés a été inférieur à 0,1% et plus de 99,9% des élevages étaient reconnus indemnes de tuberculose (Figure 1 et 2) (Bénet et Praud, 2011).

Figure 1 : Evolution du pourcentage de prévalence instantanée au 31/12 des cheptels infectés par la tuberculose bovine en France, de 1954 à 2004 (coordonnées arithmétiques)
d'après Bénet, 2001

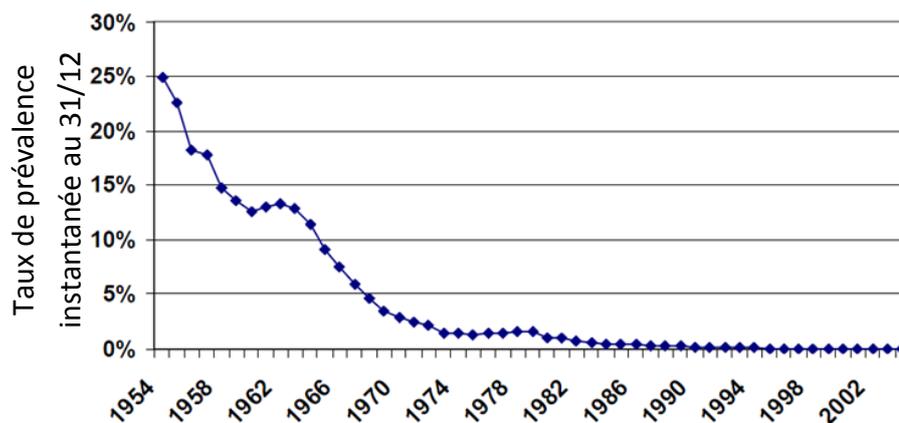
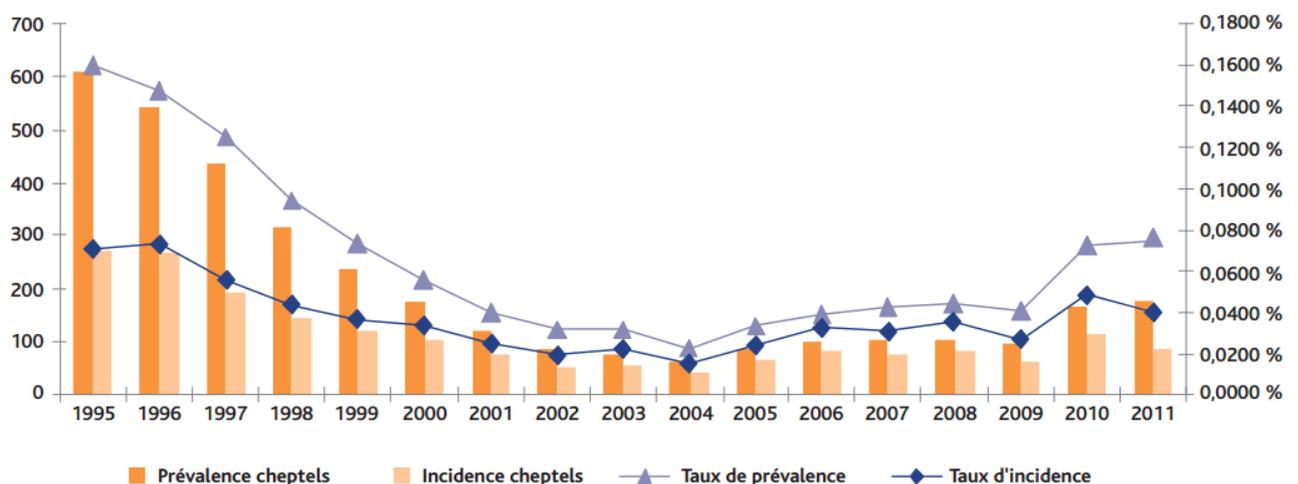


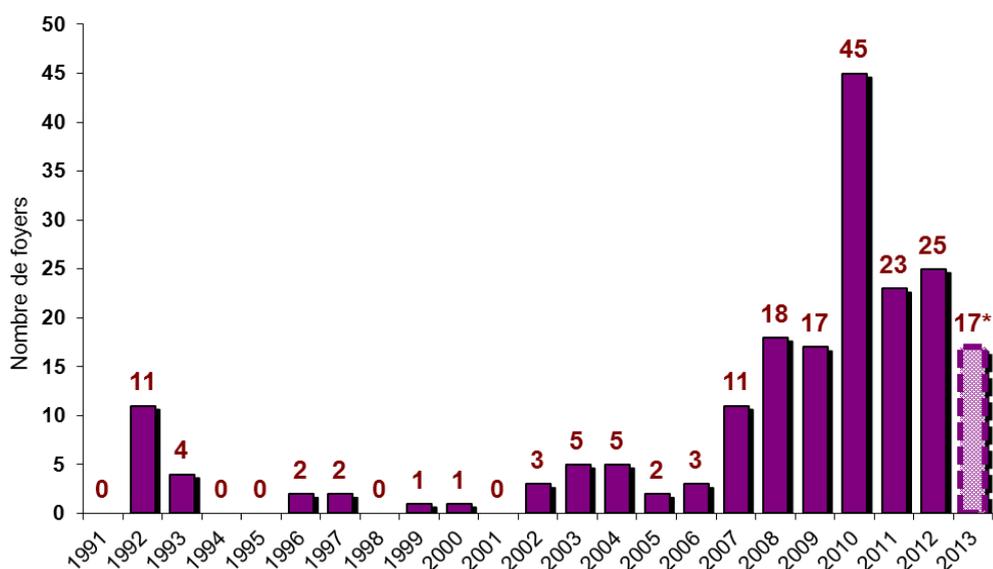
Figure 2 : Détail de l'incidence et de la prévalence de la tuberculose bovine de 1995 à 2011
d'après Fediaevsky, et al. 2012



Depuis les années 2000, en France, les éleveurs et les acteurs de la santé animale font face à une augmentation progressive du nombre d'élevages infectés qui est passé d'une cinquantaine à une centaine par an avec une concentration des cas dans des zones bien identifiées (Fediaevsky *et al.*, 2012). Actuellement, la Dordogne, la Côte d'Or et les Pyrénées Atlantiques réunissent environ 60 pour cent des foyers. Certains départements du Sud-Ouest attirent également l'attention par plusieurs foyers accumulés au cours des dernières années. La situation de la Camargue est particulière du fait de l'élevage de taureaux de combat. S'ajoute à cela l'implication de plus en plus documentée de la faune sauvage (cervidés, blaireaux, sangliers) agissant comme réservoir, agents de diffusion et éventuellement de sources de contamination pour les bovins (Hars *et al.*, 2012).

A l'instar de la France, les plans de lutte collective ont permis de diminuer l'incidence de la tuberculose en Côte-d'Or avec une accalmie apparente notable dès le début des années 1990. De 1993 à 2006, l'incidence n'a jamais dépassé les 5 foyers annuels avec aucun cas déclaré pour les années 1994, 1995, 1998 et 2001 (Dehaumont, 2012). L'allègement des mesures de prophylaxie collective dans les années 2000 a conduit à un arrêt des dépistages dans la majorité des départements français, y compris la Côte d'Or. La tuberculose bovine était considérée comme quasi disparue et, face à des cas qui semblaient limités à quelques élevages, un plan de prophylaxie avait été mis en place. Malgré tout, l'élargissement progressif de la zone n'a pas suffi à enrayer la progression de l'épizootie. L'incidence annuelle en Côte-d'Or a finalement augmenté de manière significative dès 2007 avec 11 nouveaux foyers, puis 18 en 2008, 17 en 2009, près de 45 en 2010, 23 en 2011 et 25 en 2012 (soit un taux d'incidence supérieur à 1% en 2012) (Figure 3). Parallèlement à cette augmentation d'incidence dans les élevages bovins, un portage de *M. bovis* par la faune sauvage cote d'orientienne a également pu être mis en évidence dès 2007 sur les sangliers et, de manière inédite, sur les blaireaux à partir de 2008.

Figure 3 : Evolution du nombre de foyers déclarés de tuberculose bovine entre 1991 et 2013 en Côte-d'Or. *A date du 10/03/2013 (Source : données DGAL)



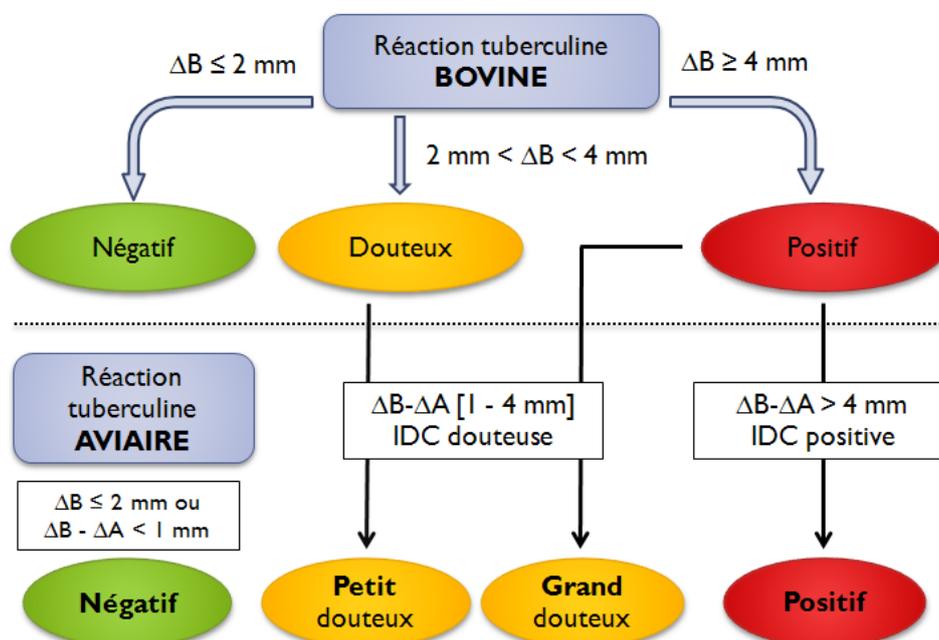
1.2 Prophylaxie actuelle de la tuberculose bovine en Côte-d'Or

Face à cette recrudescence, les services vétérinaires de Côte-d'Or sont revenus à un plan de prophylaxie annuelle fondé sur un dépistage systématique à l'**intradermotuberculination comparative (IDC)**, un test moins sensible mais beaucoup plus spécifique que l'usuelle intradermotuberculination simple (IDS) (Bénet et Praud, 2011). L'utilisation de l'IDC est d'autant plus pertinente dans le cadre de la Côte-d'Or qu'il s'agit d'un département où il est reconnu que les résultats d'IDS comprennent de nombreux faux positifs, du fait de réactions croisées aux mycobactéries atypiques environnementales dans cette région.

Le principe de l'IDC est donc de pratiquer l'injection, en deux points distincts de l'encolure de l'animal, d'une dose de tuberculine bovine et d'une dose de tuberculine aviaire. La mesure du pli de peau avant injection et 3 jours plus tard au niveau des deux points d'injection permet de mesurer la réaction des animaux à la tuberculine bovine (soit l'équivalent d'une IDS) pour un test et à la tuberculine aviaire – et *a fortiori* aux mycobactéries atypiques – pour l'autre. La différence entre les deux plis de peau permet en théorie de soustraire à la réaction à la tuberculine bovine seule la part de réaction non spécifique aux mycobactéries de l'environnement.

Suite à la lecture des IDC par un vétérinaire, un animal est classé dans une catégorie parmi 3. L'animal sera positif, douteux ou négatif. Cependant, il est intéressant de souligner que l'IDC est l'équivalent d'une IDS de laquelle on soustrairait la réaction à la tuberculine aviaire. Les acteurs de santé animale familiers de l'IDC reclassent donc les animaux en 4 catégories (note de service DGAL/SDSPA/N2010-8305 du 08/11/2010), selon la réaction à la tuberculine bovine seule, et le résultat final de l'IDC : **négatif, petit douteux (pdtx), grand douteux (gdtx) et positif** (Figure 4).

Figure 4 : Interprétation des résultats des animaux soumis à une IDC selon ΔB (différence de pli de peau au site d'injection de la tuberculine bovine) et ΔA (différence de pli de peau au site d'injection de la tuberculine aviaire)



Cette nomenclature est intéressante pour deux raisons. Premièrement elle conserve le résultat classique de l'IDC à savoir positif, douteux et négatif. Deuxièmement elle permet de reconnaître parmi les bovins douteux à l'IDC ceux qui étaient positifs en tuberculine bovine et ceux qui étaient seulement douteux. Confrontés à des réactions non négatives dans un élevage, les acteurs attachent intuitivement plus d'importance à un grand douteux qu'à un petit douteux puisque la réaction du premier à la tuberculine bovine était bien positive avant pondération par la tuberculine aviaire.

L'IDC est un test en théorie très spécifique, entre 0.98 et 0.996, plus spécifique que l'IDS donc plus adapté à du dépistage de troupeaux en zones indemnes (Bénet et Praud, 2011). Néanmoins, elle est plus coûteuse, plus longue, et ses performances ne sont pas à la hauteur des attentes. En 2009-2010 en Côte d'Or, zone connue pour son risque élevé de réactions non spécifiques, sur 1450 élevages, il fut observé une réaction non négative dans plus de quatre élevages sur dix. *A contrario* il n'y eut des résultats positifs dans 8% des cheptels qui s'avèrent tuberculeux dans un cas sur cinq (Bénet et Praud, 2011). C'est pour ces raisons que l'on utilise en série le test du dosage de l'interféron gamma.

En plus de l'IDS et de l'IDC, la mise en évidence de l'infection d'un bovin par *M. bovis* peut se faire *in vitro*, par le test de **dosage de l'interféron gamma (IFN γ)**, révélé *in vivo* par l'incubation en présence de tuberculine. Cette interleukine intervient dans le recrutement et la mobilisation des macrophages. Il ne s'agit donc pas d'une méthode sérologique, bien qu'elle nécessite une prise de sang effectuée sur anti-coagulant (Bénet et Praud, 2011). En Côte-d'Or, l'IFN γ n'était réalisé jusqu'en 2011 que sur les petits douteux (DDPP 21) mais dès 2012, l'IFN γ concernait également les grands douteux (note de service DGAL/SDSPA/N2011-8257 du 01/12/2011). En résumé il convient de se rappeler que cet examen complémentaire est réalisé conditionnellement selon le résultat de l'IDC et du contexte épidémiologique. La conduite à tenir concernant l'utilisation de l'IFN selon les résultats d'IDC et du contexte épidémiologique peut être consultée en **Annexe 1**.

Un test de dosage de l'interféron gamma consiste en 2 tests de laboratoires (de la Rua-Domenech *et al.*, 2006). Le premier test (BOVIGAM ND) utilise des dérivés de protéines purifiées de *M. bovis* et le second test (ESAT-6) utilise des protéines recombinantes spécifiques du complexe *M. tuberculosis*. Les deux tests sont effectués en parallèle. Si les deux résultats sont négatifs (respectivement positif), le test de l'interféron γ est déclaré négatif (respectivement positif). Si l'un des deux est négatif et l'autre est positif, le test est déclaré divergent. Les acteurs de la santé publique considèrent néanmoins que l'interprétation des éventuelles réactions divergentes doit être faite dans le sens de la sévérité compte tenu du caractère supposé indemne des élevages dépistés (Anses 2012).

2. Modalités d'excrétion du bacille tuberculeux par les bovins

Outre l'implication reconnue des aérosols respiratoires dans la transmission de la tuberculose (de la Rua-Domenech, 2006), la littérature ne donne que peu d'informations sur l'infectiosité des bovins tuberculeux c'est-à-dire quand, pendant combien de temps, comment et en quelle quantité un bovin infecté excrète des bacilles tuberculeux. Ce paramètre, pourtant essentiel dans la compréhension et la modélisation de la transmission de la tuberculose entre les bovins, est paradoxalement peu étudié. De plus, il est difficile de se satisfaire de modèles expérimentaux où des charges bactériennes sont directement inoculées par voie nasale, qui diffèrent vraisemblablement des conditions de l'infection naturelle (Dean *et al.*, 2006 ; Pollock *et al.*, 2006). En effet, les infections artificielles usent d'inocula de plusieurs milliers à millions de bacilles alors qu'il est reconnu que la dose infectante efficace par voie respiratoire est de l'ordre de la dizaine de bacilles (Dean *et al.*, 2006). Il paraît donc difficile de s'appuyer sur les données issues de telles inoculations pour étayer un propos d'application pratique sur l'excrétion des bovins.

Dans les pays comme le Royaume-Uni ou la France qui mènent un programme de contrôle codifié et permanent de la tuberculose bovine, les troupeaux déclarés infectés dont les animaux sont abattus et testés ne révèlent finalement que peu d'animaux infectés. Dans la majorité des foyers, seul un bovin présente des lésions de tuberculose (Liebana *et al.*, 2008). De plus il est assez inhabituel de retrouver un grand nombre de bovins à lésions au sein d'un troupeau. Cela est principalement dû aux contrôles et aux réformes qui éliminent régulièrement des élevages les animaux tuberculeux : la maladie n'a donc que peu de temps pour se développer chez les infectés qui ont pu passer inaperçus. Le faible nombre de bovins infectés au sein des troupeaux et des données d'enquêtes de terrain vont dans le sens d'une transmissibilité globalement faible de la tuberculose entre les bovins : une faible infectiosité, une faible réceptivité des bovins ou une combinaison des deux pourraient en être la cause (O'Reilly et Daborn, 1995 ; Palmer et Walter, 2006).

Chez l'Homme l'infectiosité est considérablement augmentée dans les formes « ouvertes » et lorsqu'il est possible de retrouver des bacilles dans le crachat. Elle dépendrait aussi de paramètres individuels qui conditionneraient la quantité d'aérosols émis comme la profondeur et la chronicité de la toux (O'Reilly et Daborn, 1995). Certains patients seraient ainsi de meilleurs excréteurs que d'autres. Avérée chez l'Homme, l'existence de « super-excréteurs » est aussi suspectée chez les bovins suite à des observations de terrain mettant en évidence de nombreux animaux devenus positifs à la tuberculine en peu de temps après un contact prolongé avec un seul bovin infecté (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001).

L'infectiosité d'un bovin dépend directement de la durée d'évolution de la maladie depuis la primo-infection. Après l'infection par des bacilles, le bovin entre dans une phase de latence qui précède la phase d'excrétion. Au cours de la phase de latence on distingue une première phase ante-allergique, pendant laquelle le bovin ne donne aucune réponse aux

tests fondés sur la mise en évidence d'une réaction immunitaire, et une phase allergique, fluctuante, pendant laquelle le bovin pourra éventuellement donner une réponse positive aux tests susmentionnés (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001). Néanmoins un bovin positif aux tests ne sera donc pas forcément excréteur et *vice versa*. Des mycobactéries ont ainsi pu être isolées d'écouvillons nasaux et de lavages broncho-alvéolaires de bovins ayant réagi négativement à la tuberculine (O'Reilly et Daborn, 1995).

Avant tout, l'excrétion est considérée comme précoce à l'échelle de la maladie, c'est-à-dire que l'excrétion débute bien avant la manifestation de signes cliniques qui peuvent apparaître après plusieurs années. Selon les publications, la durée totale de la phase de latence, c'est-à-dire le temps nécessaire à un animal infecté pour devenir lui-même infectant durerait entre 90 et 230 à 270 jours mais rarement moins de six mois selon Barlow *et al.* en compilant les durées constatées par différents auteurs (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001). Ces durées estimées en condition naturelle sont loin d'être aussi longues chez des veaux infectés artificiellement. La durée moyenne avant excrétion suite à l'inoculation de 1000 et 10⁶ CFU par voie intra-nasale à des veaux a été respectivement de 18 et 11 jours. Certains veaux commençaient même à excréter après 7 jours (O'Reilly et Daborn, 1995). D'autres études mettent en évidence la relation croissante entre la dose inoculée et la précocité de l'excrétion ce qui permet d'imaginer qu'en condition naturelle, l'inoculum infectant doit être pauvre en bacilles.

Admis depuis des décennies, le caractère irrégulier voire intermittent de l'excrétion des bacilles semble faire consensus parmi les experts. Une étude a montré que la durée séparant deux périodes infectantes pouvait aller de 4 à 7 mois alors même que les bovins supposés excréteurs ont présenté de nombreuses lésions à l'abattage (O'Reilly et Costello, 1988). Plusieurs auteurs ont cherché à mettre en évidence de manière systématique la présence de bactéries dans des excréments de bovins provenant de régions fortement infectées, positifs à la tuberculine ou présentant des lésions à l'abattoir. Ces études ont rapporté entre 6,7% et 20% d'échantillons positifs selon le protocole employé ce qui prouve qu'au maximum seul un bovin infecté sur 5 est excréteur à un moment donné. L'intermittence de l'excrétion ne semble pas en être la seule cause (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001). L'analyse de prélèvements réalisés *post-mortem* sur 32 bovins présentant des lésions des nœuds lymphatiques de la tête a révélé 12 bovins positifs pour *M. bovis* sur des échantillons de mucus nasal, cornets nasaux et muqueuse pharyngée (17 en comptant les amygdales). Le taux correspondant de culture positive dans la lumière des voies respiratoires supérieures est donc de 38% (53% en comptant les amygdales) (Cassidy *et al.*, 1999a).

Enfin il est admis que l'excrétion du bovin, bien qu'intermittente, est **durable** et opère pendant tout le vivant de l'animal (Bénet et Praud, 2011).

3. Relation entre excrétion et lésions retrouvées à l'examen post-mortem

Comme évoqué précédemment, seul un petit nombre d'études apporte des réponses concernant la relation entre les lésions (nombre, type histologique et localisation) retrouvées sur un bovin à l'examen post-mortem et son pouvoir excréteur ante-mortem.

Kao *et al.* (2007) ont conduit une étude portant sur douze veaux provenant d'élevages indemnes infectés artificiellement par voie intra-nasale. Ils ont ensuite prélevé les sécrétions nasales des veaux deux fois par semaine pendant huit semaines qu'ils ont mis en culture pour identification. La variable étudiée était le nombre d'unités formant colonies obtenues dans chaque prélèvement. Les auteurs ont constaté une corrélation linéaire très significative entre l'extension des lésions à l'examen post-mortem et le nombre total de bactéries excrétées par le veau d'une part, et la durée totale d'excrétion (données non présentées dans l'article). L'article ne fournit toutefois aucune donnée macro- ou microscopique concernant les lésions retrouvées chez les veaux.

Dans des régions infectées où les bovins suspects sont abattus à un rythme annuel, on observe une diminution de l'extension lésionnelle des animaux infectés. On peut en déduire dans les élevages à fort taux de renouvellement, le pouvoir excréteur potentiel d'un troupeau s'en trouve diminué. Costello *et al.* (1997) rapportent ainsi entre 66 et 74% de bovins en provenance de régions infectées porteurs d'une unique lésion sur 353 bovins autopsiés (Costello *et al.*, 1997). Dans une autre étude plus récente (Liebana *et al.*, 2008), sur 400 bovins provenant de régions infectées le nombre moyen de lésions par bovin réagissant à la tuberculine était de 1.7, nombre (et 1.3 pour les animaux non réagissant mais appartenant aux mêmes troupeaux que les bovins réagissant).

Depuis des décennies, l'existence des lésions « ouvertes » est reconnue parmi les spécialistes de la tuberculose bovine (O'Reilly et Daborn, 1995). Un bovin à tuberculose ouverte est défini comme **« un animal qui excrète ou expulse du matériel tuberculeux ou chez qui on trouve, à l'examen *post-mortem*, des lésions de distribution et d'extension telles (larges lésions pulmonaires caséuses communicant avec les bronches ou lésions rénales, vésicales, utérines, hépatiques) que l'excrétion de bacilles tuberculeux au cours de sa vie peut raisonnablement être supposée »**. Si l'excrétion accrue de bacilles à partir de lésions ouvertes s'explique mécaniquement, aucun article à notre connaissance ne l'établit rigoureusement. Il est néanmoins très probable qu'un bovin présentant des lésions parenchymateuses avec des granulomes caséux ouverts se déversant dans les bronchioles et les bronches ait excrété des bacilles de son vivant.

La liquéfaction et la cavitation des lésions tuberculeuses, permettant l'évacuation éventuelle de fluides contaminants dans les voies respiratoires sont des événements essentiels dans la transmission de la tuberculose chez les humains car elles augmentent le pouvoir excréteur du malade (O'Reilly et Daborn, 1995). Si la liquéfaction et la cavitation ont été décrites chez les bovins, elles appartiennent plutôt aux bovins tuberculeux d'élevage non

contrôlés car ce type de lésions demande une maturation longue de la maladie (Cassidy, 2006). Ainsi, elles sont rarement retrouvées chez les bovins français car ceux-ci sont abattus à des stades précoces de la maladie, et particulièrement dans les régions infectées où la pression de détection et d'abattage est forte. Pour exemple, entre 1971 et 1977, dans la région de Bristol, soumise à dépistage annuel, seuls 21 bovins à lésion « ouvertes » ont été détectés parmi plus de 1000 bovins tuberculeux (O'Reilly et Daborn, 1995).

Ce type de lésions explique par contre le fort pouvoir excréteur des animaux sauvages qui, eux, peuvent développer la maladie jusqu'à un stade suffisamment avancé pour qu'elles apparaissent en grand nombre (Cassidy, 2006).

A l'opposé des lésions « ouvertes » il a longtemps été admis que les lésions cantonnées aux nœuds lymphatiques étaient des lésions fermées et que les bovins présentant de telles lésions ne devaient probablement pas être excréteurs (Gallagher, 1980). Ce postulat a été remis en cause par les travaux de Dannenberg *et al.* (1999) qui ont montré que des bacilles tuberculeux présents dans les nœuds lymphatiques pouvaient à tout moment s'établir dans le parenchyme pulmonaire suite à la migration d'embolus bactériens depuis les nœuds lymphatiques contaminés via les canaux lymphatiques efférents, le canal thoracique, le cœur droit puis la vascularisation pulmonaire.

La dénomination « tuberculose fermée » est d'autant plus trompeuse qu'elle dépend directement du degré de détail accordé à l'examen *post-mortem*. Ainsi McIlroy *et al.* (1986) ont montré que 70% des bovins ne présentant *a priori* que des lésions des nœuds lymphatiques avaient également des lésions millimétriques du parenchyme pulmonaire. Cette constatation ne fut permise que par le protocole nécropsique des auteurs prévoyant une découpe systématique du poumon en tranches de quelques centimètres, bien plus exigeant que le protocole de routine appliqué dans les abattoirs français. Un protocole d'inspection standard ne mettant en évidence que des lésions lymphatiques ne peut donc affirmer le caractère « fermé » d'une tuberculose observée sur un bovin. Des lésions, même millimétriques, de nécrose et de calcification dans les nœuds lymphatiques pourraient ainsi contribuer à l'extension de la maladie (Fenhalls *et al.*, 2000). De telles lésions, identifiées comme des granulomes de grade IV selon l'échelle de Wangoo *et al.* (2005) ont été retrouvées dans 63% des cas dans une étude nécropsique portant sur 400 bovins provenant de régions infectées du Royaume Uni (Liebana *et al.*, 2008). Seuls 16% des lésions contenaient des granulomes « jeunes » de stade I et II. Ainsi une majorité des bovins présentaient des lésions susceptibles de les rendre excréteurs.

En résumé, tout bovin retrouvé avec des lésions des nœuds lymphatiques devrait être considéré comme excréteur. La différence de pouvoir excréteur entre un bovin à lésions lymphatiques et à lésions parenchymateuses n'est néanmoins pas établie de manière absolue. Cependant des travaux conduits en Dordogne tendraient à mettre en évidence une plus grande proportion de bovins à lésions parmi des élevages où au moins un bovin à lésion parenchymateuse était présent que parmi des élevages où aucun bovin à lésion

parenchymateuse n'avait été retrouvé. Le pouvoir infectieux d'un bovin à lésion parenchymateuse serait donc supérieur. (Bénet, communication personnelle).

Si l'atteinte préférentielle (mais non exclusive) de la sphère pulmonaire est une constante dans la tuberculose bovine, la localisation précise des lésions retrouvées sur les carcasses a beaucoup évolué au cours des cinquante dernières années. Les campagnes de prophylaxie et d'éradication systématique des bovins infectés qui ont conduit à détecter les animaux à des stades plus précoces de leur tuberculose ont permis de réduire significativement la fréquence relative des lésions du parenchyme pulmonaire retrouvées à l'abattoir (Cassidy, 2006). Dans l'étude de Liebana *et al* (2008), seuls 24% des animaux tuberculeux portaient des lésions parenchymateuses, même après découpage fin du parenchyme à l'instar des travaux de McIlroy en 1986. Aujourd'hui et dans les régions où la pression de dépistage est forte, les lésions sont plus fréquemment retrouvées dans les nœuds lymphatiques pulmonaires (médiastinaux et trachéo-bronchiques) et moins dans le parenchyme pulmonaire.

Un autre point à souligner est la proportion significative de lésions (entre 20 et 40%), retrouvées dans les nœuds lymphatiques du cou et de la tête (rétropharyngiens, parotidiens et sublinguaux) mais aussi parfois dans les amygdales. L'atteinte significative de ces nœuds et des amygdales est confortée par de nombreuses études depuis les années 1990 (Whipple *et al.*, 1996 ; Griffin *et al.*, 2006 ; Pollock *et al.*, 2006 ; Liebana *et al.*, 2008). Ces lésions sont parfois même les seules observées sur l'animal ce qui infirme la primauté de l'atteinte pulmonaire dans la tuberculose des bovins. Il ainsi est établi que les amygdales font partie des voies d'entrée possible des bacilles tuberculeux chez les bovins, les cervidés et l'homme. Cette théorie est confortée par l'atteinte majoritaire, au sein des nœuds lymphatiques cervicaux, du nœud lymphatique rétropharyngien médial (celui même qui draine les amygdales), chez les bovins infectés expérimentalement ou naturellement (Griffin *et al.*, 2006 ; Liebana *et al.*, 2008). Les amygdales, sont particulièrement bien exposées aux bacilles contenus dans des matériaux contaminés ingérés, des aérosols de grande taille inhalés ou encore des sécrétions infectées expectorés depuis les poumons. Cette dernière modalité semble toutefois peu efficace en début d'évolution : sur 20 veaux infectés par voie trachéale (donc sans contact avec le pharynx) aucun n'a présenté de lésion des nœud lymphatiques de la tête après 25 semaines post-infection malgré la présence de lésions parenchymateuses et des nœuds lymphatiques pulmonaires (Dean *et al.*, 2005).

Dans l'étude de Cassidy *et al.*, il a été possible d'isoler *M. bovis* dans 38% à 53% d'échantillons provenant des voies respiratoires supérieurs et/ou des amygdales de bovins présentant des lésions des ganglions rétropharyngiens (Cassidy *et al.*, 1999a). Dans deux autres études seulement 20% de prélèvements provenant des voies respiratoires supérieures de bovins tuberculeux ont été positifs (Goodchild et Clifton-Hadley, 2001). L'atteinte des ganglions rétropharyngiens semble donc *a priori* être un facteur favorisant la présence de bacilles dans les voies respiratoires supérieures et donc l'excrétion.

Chez les humains les lésions tuberculeuses du larynx et des voies respiratoires supérieures sont associées à un fort pouvoir excréteur. Le caractère secondaire d'une atteinte supérieure est d'ailleurs un élément en faveur d'une excrétion active de bacilles depuis les voies profondes. (Cassidy, 2006). Ainsi, des bovins présentant des lésions des amygdales ou des nœuds lymphatiques cervicaux pourraient également être considérés comme excréteurs, surtout si ces lésions sont accompagnées de lésions pulmonaires.

Reste enfin le cas des bovins retrouvés positifs par un test de laboratoire (culture, PCR ou histologie) mais sans lésions visibles trouvées à l'abattoir. Liebana rapporte ainsi douze animaux positifs en histologie ou PCR sur 89 animaux réagissant à l'IDC mais sans lésions visibles (13%) et 7 animaux positifs en histologie ou PCR sur 172 animaux non réagissant (mais provenant des mêmes troupeaux que les animaux réagissant cités précédemment) et sans lésions visibles (4%) (Liebana *et al.*, 2008). Cassidy (2008) suppose que ces animaux pourraient en être à un stade latent de l'infection mais pourraient malgré tout excréter et contribuer à la transmission de la maladie.

4. Bilan de la partie bibliographique

En conclusion, il faut d'abord souligner la difficulté de trouver des données scientifiques sur l'excrétion de *M. bovis* par les bovins tuberculeux et encore plus de relier cette excrétion aux résultats anatomo-pathologiques des animaux abattus. De plus, les études nécropsiques les plus récentes dans des pays où des plans de lutte sont mis en place vont dans le sens d'une raréfaction des bovins à lésions pulmonaires parenchymateuses « classiques » au profit des lésions des nœuds lymphatiques pulmonaires et cervicaux. Enfin, si le pouvoir excréteur des bovins avec des lésions parenchymateuses est univoque, il est aussi nécessaire de considérer comme des excréteurs potentiels les bovins avec des lésions des nœuds lymphatiques pulmonaires et cervicaux, et des amygdales.

En partant de l'hypothèse qu'un bovin à lésion est un bovin excréteur, nous pouvons maintenant nous intéresser aux données obtenues en Côte-d'Or et déterminer s'il existe des facteurs de risque (résultats de prophylaxie, facteurs d'élevage) permettant de prédire le nombre de bovins à lésion retrouvés à l'abattage dans les foyers et, par conséquent, du risque d'exposition des éleveurs travaillant dans ces foyers.

DEUXIÈME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE

Afin d'aider les acteurs de santé publique à **évaluer le risque d'exposition des éleveurs à la tuberculose bovine** dans les foyers de Côte-d'Or, nous avons cherché à déterminer des profils de risque d'excrétion dans les foyers. Nous avons donc mis en relation le nombre de bovins à lésions – donc potentiellement excréteurs - retrouvés dans chaque foyer avec les **résultats de la campagne de prophylaxie** précédant immédiatement (ou suivant en cas de découverte fortuite d'abattoir) la découverte du foyer et les **facteurs d'élevage**.

1. Matériel et méthode

1.1 Base de travail

L'intégralité du travail a porté sur la base de données de la Direction Départementale de la Protection des Populations de Côte-d'Or (DDPP 21) actualisée en janvier 2013. Pour toute la suite on appellera foyer de tuberculose bovine tout élevage bovin où l'existence de la tuberculose bovine a été confirmée par les examens prévus par la législation et placé sous arrêté préfectoral portant déclaration d'infection (APDI). Cette base de données contenait des renseignements allant de novembre 2009 à décembre 2012 dont les données concernant les foyers de tuberculose bovine de Côte-d'Or déclarés entre janvier 2010 et décembre 2012. Les données disponibles incluaient :

- les interventions réalisées par les vétérinaires sanitaires dans les élevages et le contexte de leur réalisation (prophylaxie ou police sanitaire).
- les résultats de prophylaxie (IDC et interféron) par élevage
- les résultats de prophylaxie (IDC et interféron) par animal dans les élevages suspects où des réactions non négatives ont été observées
- les données d'abattoir par bovin notamment, l'identification, la date d'abattage, la présence ou non de lésions et leur localisation, les résultats PCR, culture et histologie
- des données générales sur les élevages (type de production, le nombre total de bovins de l'exploitation, coordonnées...) et les foyers (dates d'APDI, nombre d'animaux abattus...).

Dans un premier temps la base a été traitée de manière à uniformiser les données, supprimer les données aberrantes et les doublons afin d'effectuer des requêtes fonctionnelles. Dans un deuxième temps, la base de données a servi de support à l'élaboration d'une table de travail réunissant toutes les données pertinentes permettant de répondre au problème posé.

1.2 Précisions sur les données

Le but de ce travail a été de déterminer des profils de risque d'excrétion en vue de caractériser le risque d'exposition humaine. Pour déterminer ces profils nous avons à disposition pour chaque foyer des facteurs d'élevage, des résultats de prophylaxie ainsi que

des données d'abattoir. Cependant toutes les données n'étaient pas pertinentes pour caractériser l'excrétion potentielle d'un foyer et établir des facteurs prédictifs d'une potentielle exposition des éleveurs à la tuberculose bovine.

Concernant les résultats de prophylaxie dans les foyers nous n'avons considéré que les résultats IDC et interféron de la campagne de prophylaxie **précédant immédiatement la découverte** du ou des bovin(s) à l'origine de l'APDI (< 6 mois) lorsque la suspicion initiale était venue des tests de dépistage. Pour les quelques cas de découverte fortuite d'un ou plusieurs bovins à lésions tuberculeuses à l'abattoir, nous avons considéré les résultats des tests de dépistage suivant immédiatement (< 2 mois) la découverte d'abattoir.

Concernant les données d'abattoir, nous avons considéré qu'un bovin à lésion était un bovin présentant des **lésions macroscopiques** signalées dans la base de données **ET dont au moins un résultat** de PCR ou de culture (respectivement d'histologie) était revenu positif (respectivement compatible avec la tuberculose bovine). Nous avons donc exclu :

- les bovins sans lésions macroscopiques et sans résultat complémentaire positif.
- les bovins présentant des lésions macroscopiques non confirmées par un examen complémentaire (le plus souvent actinomyose ou lésions inflammatoires non spécifiques) qui ont été considérés comme non tuberculeux.
- les bovins tuberculeux (au moins un examen complémentaire positif) mais sans lésions macroscopiques (considérés donc a priori comme faiblement ou non excréteurs).

En outre, base de données disponible contenait des informations sur la localisation des lésions. Nous n'avons pas exploité ces données car elles n'étaient pas disponibles pour l'ensemble des animaux et, de plus, elles ne localisaient la lésion que dans des nœuds lymphatiques (majoritairement trachéobronchiques, pulmonaires et rétropharyngiens).

Il est important de souligner le fait que le travail a été réalisé uniquement en **nombre brut** (nombre de réactions, nombre d'animaux à lésions...). Ce choix a été fait en raison du manque d'information à la fois sur le nombre d'animaux testés mais aussi sur le nombre d'animaux abattus dépendant directement du type d'abattage réalisé dans le troupeau (abattage total ou abattage partiel étalé dans le temps). Il n'était donc pas possible de raisonner sur des taux de réaction à l'IDC et des taux d'animaux à lésions.

1.3 Logiciels

La base de données au format .mdb a été traitée à l'aide de Microsoft Access 2003 ©. Une fois la base de travail construite, les calculs statistiques et les graphiques ont été réalisés à l'aide de Microsoft Excel 2010 © et du logiciel XLSTAT © version 2013. Certains résultats proviennent aussi du logiciel Epi Info © version 3.4.3 et de son calculateur Statcalc. Les résultats de ce travail ont été compilés à l'aide de Microsoft Word 2010 ©.

1.4 Tests et outils statistiques

Les moyennes ont été comparées à l'aide d'un **test de Student** avec un risque $\alpha = 20\%$ dans un but exploratoire. Les associations brutes ont été quantifiées avec un risque $\alpha = 5\%$ à l'aide du **test du Khi^2 de Pearson** et, si un effectif calculé était inférieur à 5, à l'aide du **test de Fisher exact**. Le test de corrélation utilisé est un **test de corrélation de Spearman** avec un risque $\alpha = 5\%$. Les intervalles de confiance des odds ratio calculés par **régression logistique** sont des intervalles de confiance à 95%.

Le **test de Cochran-Armitage** permet de tester si des proportions, éventuellement calculées à partir d'un tableau de contingence, peuvent être considérées comme variant linéairement en fonction d'une variable ordinale ou continue. Le risque α attribué à ce test dans ce travail a été fixé à 5%.

Afin de représenter sur le même graphique le nombre de réactions positives, le nombre de grands douteux (**gdtx**), le nombre de petits douteux (**pdtx**) et le nombre de lésions, la méthode de choix est **l'analyse factorielle des correspondances** (AFC). Cette méthode d'analyse des données permet, pour résumer, de représenter graphiquement sur un plan les données d'un tableau croisé dynamique de taille n ; autrement dit de présenter sur un graphique un nuage de point de dimension 2 à partir d'un nuage de point de dimension n . La proximité des différentes variables dans le nuage de point donne une indication de la relation qu'il peut exister entre elles : plus deux variables sont proches, plus elles sont corrélées (Fenelon, 1981).

L'**arbre de classification** présenté dans ce document a été réalisé selon la méthode CHAID (CHi-squared Automatic Interaction Detector). Les arbres de classification sont des méthodes qui permettent d'obtenir des modèles à la fois explicatifs et prédictifs. Parmi leurs avantages on notera leur simplicité du fait de la visualisation sous forme d'arbres. Le but est de vérifier si un certain nombre de variables descriptives permettent de prédire efficacement une variable de sortie ou variable dépendante. A partir du nœud initial qui comprend la totalité des effectifs étudiés, la meilleure variable de séparation est celle pour laquelle la p-value est la plus petite (dans le cas d'une variable dépendante qualitative c'est un test du Khi^2 de Pearson qui est effectué). A chaque création d'un nouveau sous-nœud, les critères d'arrêt du programme sont vérifiés, et si aucune des conditions n'est remplie, le nœud est à son tour considéré comme un nœud initial, et la procédure est itérée.

Le programme traçant l'arbre peut aussi calculer un pourcentage d'observations bien classées. Lorsque seules deux variables descriptives décrivent la variable dépendante, une **courbe ROC** (Receiver Operating Characteristics) peut aussi être tracée. Celle-ci permet de visualiser la performance du modèle. On désigne par sensibilité la proportion d'événements positifs bien classés et par spécificité la proportion d'événements négatifs bien classés. L'aire sous la courbe (ou Area Under the Curve – AUC) est un indice synthétique calculé pour les courbes ROC. On considère habituellement que le modèle est bon dès lors que la valeur de l'AUC est supérieure à 0,7. Un modèle bien discriminant doit avoir une AUC entre 0,87 et 0,9. Un modèle ayant une AUC supérieure à 0,9 est excellent (XLSTAT).

2. Résultats

2.1 Description des données

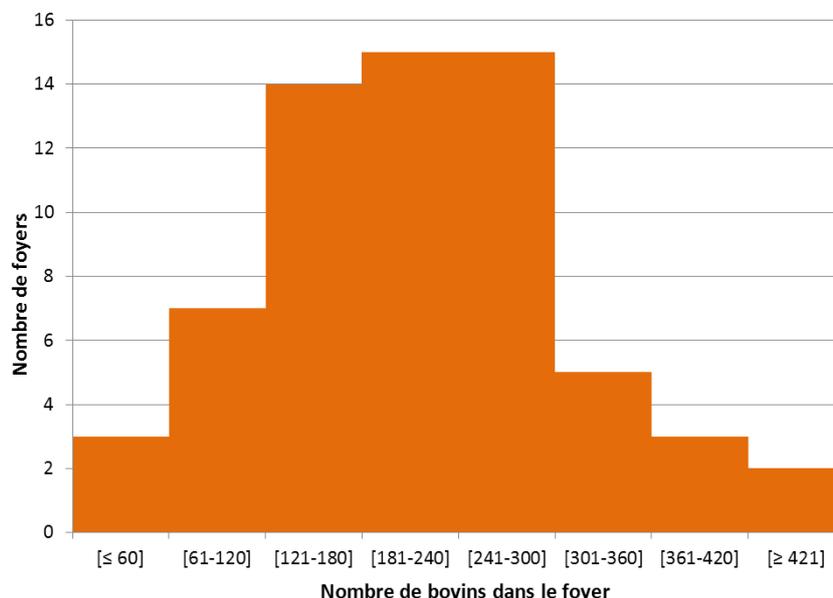
2.1.1 Typologie des élevages

Entre janvier 2010 et décembre 2013 en Côte-d'Or, 93 foyers de tuberculose bovine ont été recensés sur 89 élevages (4 élevages ont été deux fois foyers durant la période d'étude). Nous n'avons retenu que les foyers pour lesquels les résultats d'intradermotuberculation comparatives (IDC) étaient disponibles, soit 65 des 93 foyers (70%). **Pour rappel, le terme de foyer désigne un élevage où au moins un bovin a été confirmé comme étant infecté de tuberculose bovine selon des modalités définies par la législation.**

Sur les 65 foyers, 56 étaient des élevages de type allaitant (86%), 5 étaient des élevages mixtes, c'est-à-dire produisant à la fois de la viande et du lait, et 4 étaient des élevages laitiers. La proportion importante d'élevages allaitants est explicable par le profil du département d'étude dont la production bovine est essentiellement allaitante.

La distribution normale des effectifs en bovins dans les 65 foyers a été vérifiée (Figure 5). L'effectif total correspond à l'ensemble des bovins de l'exploitation.

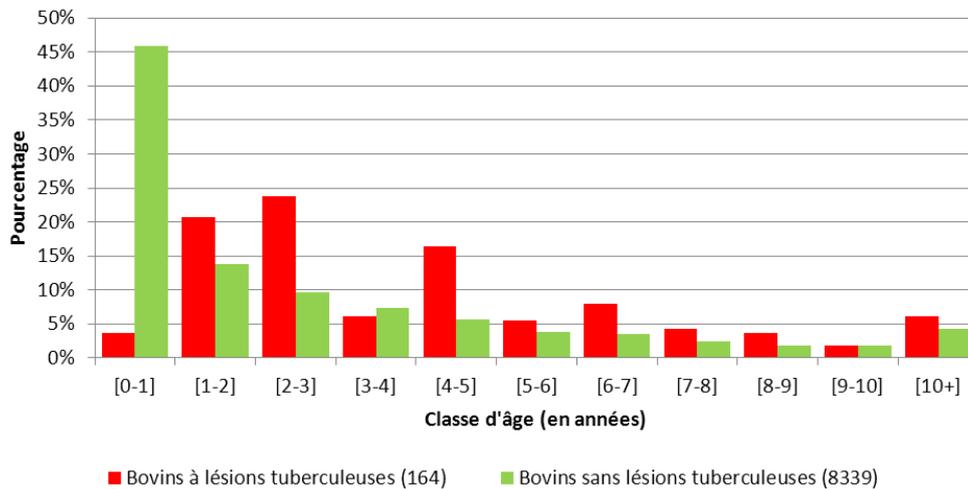
Figure 5 : Distribution des 65 foyers de l'étude en fonction de leur effectif total en bovin



2.1.2 Age des animaux

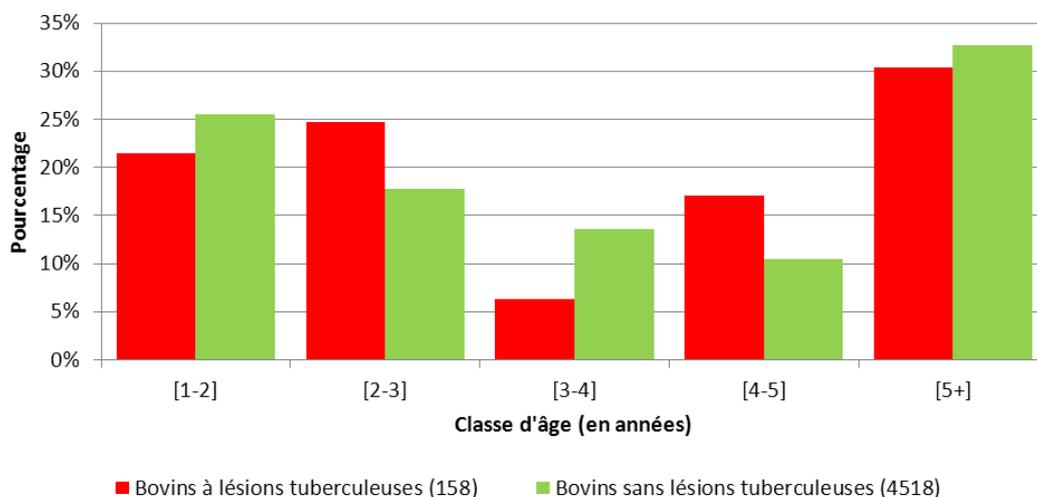
La distribution de l'âge des animaux est présentée dans la Figure 6.

Figure 6 : Distribution de l'âge des bovins à lésions tuberculeuses et des bovins sans lésions tuberculeuses dans les 93 foyers de l'étude



Nous pouvons voir sur ce premier graphique que les bovins entre 0 et 1 an représentent une proportion très importante des animaux sans lésions tuberculeuses abattus. Il nous est apparu pertinent de ne s'intéresser qu'aux animaux de plus de 1 an car les animaux de moins de 1 an présentent rarement des lésions. Les animaux de 5 ans et plus ont été aussi regroupés car, au-delà de cinq, ans les effectifs de chaque classe d'âge deviennent faibles et présentent a priori peu de différences sur le plan épidémiologique (Figure 7).

Figure 7 : Détail pour certaines classes d'âge de la distribution de l'âge des bovins à lésions tuberculeuses et des bovins sans lésions tuberculeuses dans les 93 foyers de l'étude

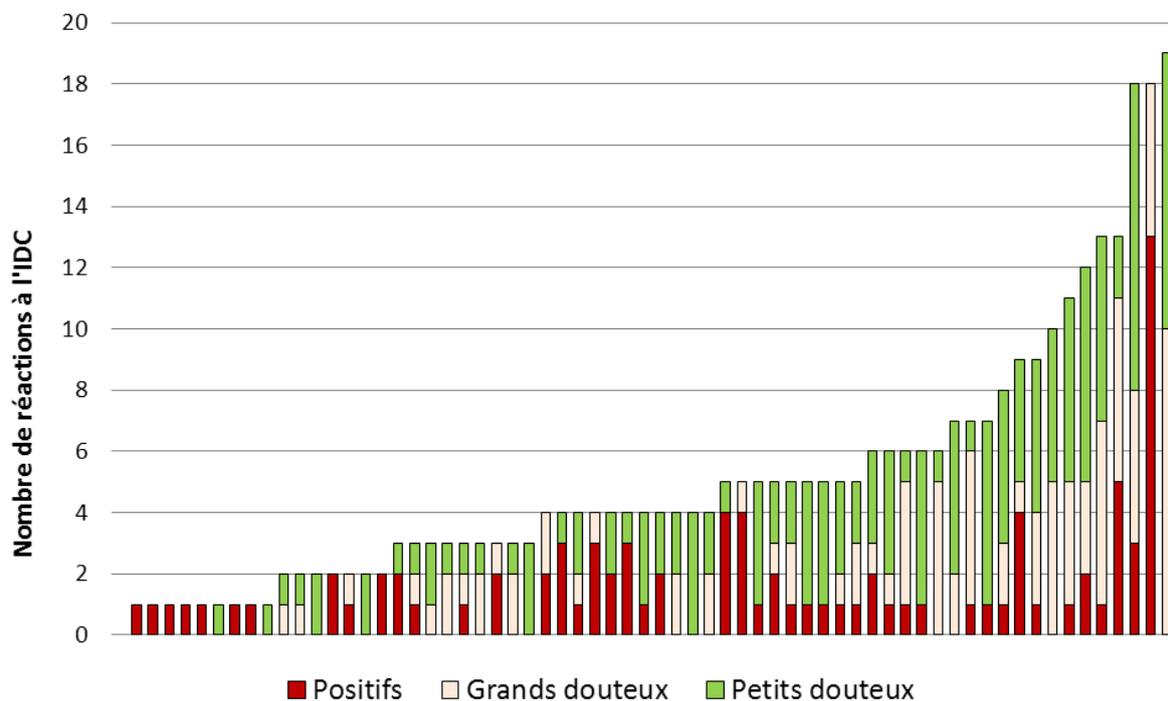


Le **test de tendance de Cochran-Armitage** n'a pas été significatif ($p = 82\%$) autrement dit la proportion d'animaux à lésion dans chaque classe d'âge ne varie pas linéairement selon l'appartenance aux classe d'âge croissantes.

2.1.3 Résultats de prophylaxie

Environ 9000 résultats d'IDC étaient disponibles pour les 65 foyers de l'étude. Les profils réactionnels obtenus immédiatement avant la mise en place de l'APDI dans ces 65 foyers présentent une variabilité notable (Figure 8). On peut distinguer des élevages avec plus ou moins de réactions non négatives (entre 0 et 19) et au sein des élevages constater la grande variabilité entre le nombre de positifs, de grands douteux et de petits douteux.

Figure 8 : Distribution des 65 foyers en fonction du nombre de résultats positifs, grand douteux et petits douteux obtenus par IDC durant le dépistage précédant l'APDI



2.1.4 Résultats d'abattage

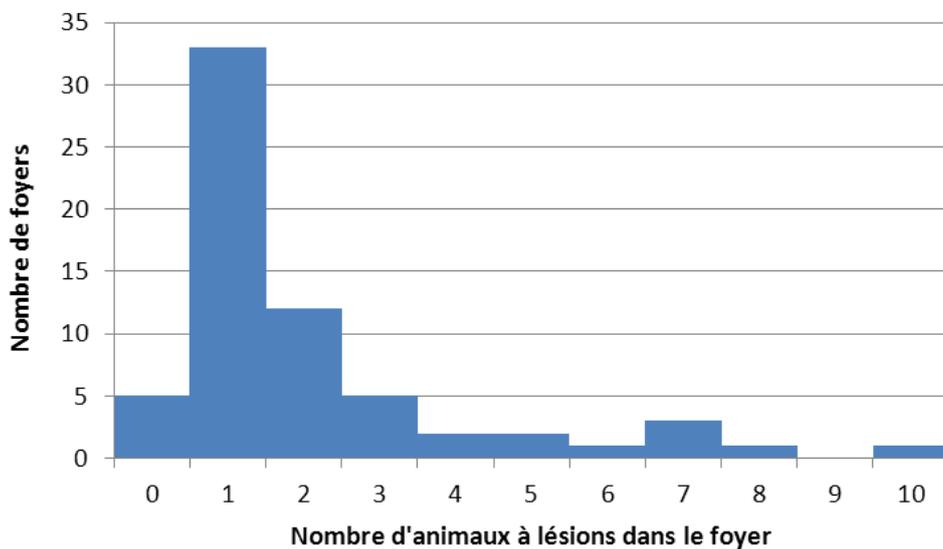
La découverte et la déclaration de 89 élevages foyers entre 2010 et 2012 a conduit à l'abattage de plus de 10 000 bovins (enregistrés dans la base) dont :

- **168** bovins répondant à notre définition de bovins à lésions présentée plus haut c'est-à-dire la présence de lésions macroscopiques avec au moins PCR, culture ou histologie positive.
- **78** bovins avec au moins une lésion macroscopique enregistrée dans la base de données mais non confirmée par un examen complémentaire (résultats absents ou négatifs) ou attribuée à un autre agent pathogène (identification après culture ou histologie).
- **46** bovins confirmés comme étant tuberculeux par une PCR, histologie ou culture positive mais sans lésion macroscopique enregistrée dans la base de données.

On notera donc que 24,5% des animaux tuberculeux retrouvés dans ces foyers ne présentaient aucune lésion macroscopique. Ces bovins ont été l'origine de la mise en place d'un APDI dans 20 foyers entre 2010 et 2012, soit près d'un 1/5 des foyers.

Plus particulièrement, dans les 65 foyers étudiés, ce sont entre 7000 et 8000 bovins qui ont été abattus menant à la découverte de 135 bovins à lésions. La distribution du nombre de bovins à lésion dans ces foyers (Figure 9) est cohérente avec les données de la littérature qui mettent en évidence une large majorité de foyers où seul un animal à lésion est retrouvé (Costello *et al.*, 1997). On notera la présence de 5 foyers où aucun bovin à lésion tuberculeuse macroscopique n'a été retrouvé.

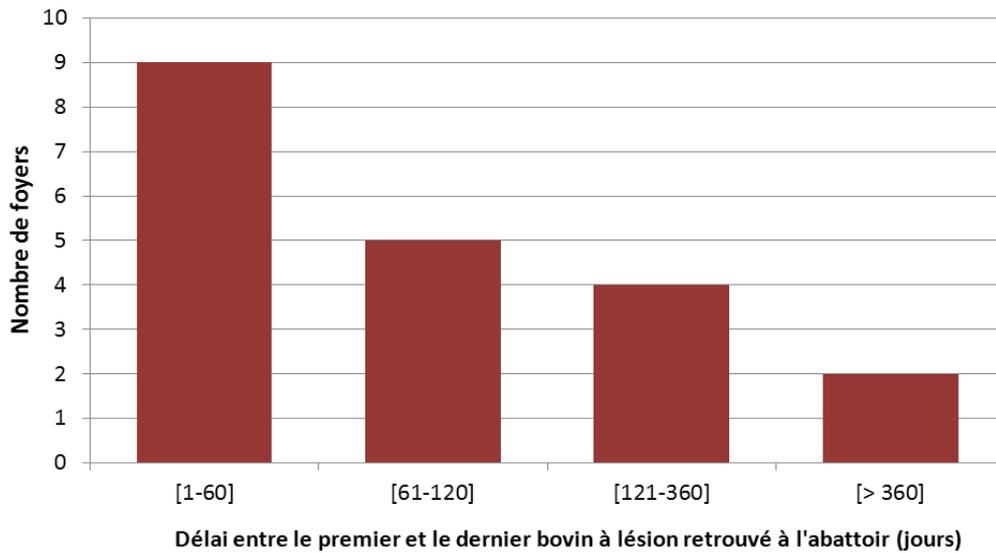
Figure 9 : Distribution des 65 foyers de l'étude en fonction du nombre de bovins à lésion retrouvés à l'abattage



Sur les 65 foyers, 45 foyers ont été traités en abattage sélectif (70%). Lors d'un abattage sélectif, seuls les animaux présentant des réactions positives aux tests de dépistage sont envoyés à l'abattoir. Les bovins sont ainsi abattus de manière étalée dans le temps en fonction des résultats de dépistage obtenus suite à la mise en place de l'APDI. De plus 5 foyers ont été traités en abattage sélectif avant de passer en abattage total. Dans 20 de ces 50 foyers, un ou plusieurs bovins à lésions ont été découverts à l'abattoir après la découverte du premier bovin à l'origine de l'APDI.

Dans le cadre de la recherche de facteurs de risque d'excrétion, il est intéressant de représenter la distribution des délais entre la découverte du premier bovin à l'origine de l'APDI et la découverte du dernier bovin à lésion en date au sein de chaque foyer (Figure 10). On constate que dans 11 foyers, le délai est supérieur à 2 mois, c'est-à-dire deux mois pendant lesquels le ou les bovins à lésion encore dans l'élevage ont potentiellement pu excréter des mycobactéries. En guise de comparaison, le délai moyen de découverte du dernier bovin à lésion dans les foyers en abattage total est de 43 jours.

Figure 10 : Délai entre le premier et le dernier bovin à lésion retrouvé à l'abattoir dans les foyers traités en abattage sélectif ou en abattage sélectif puis total entre 2010 et 2012

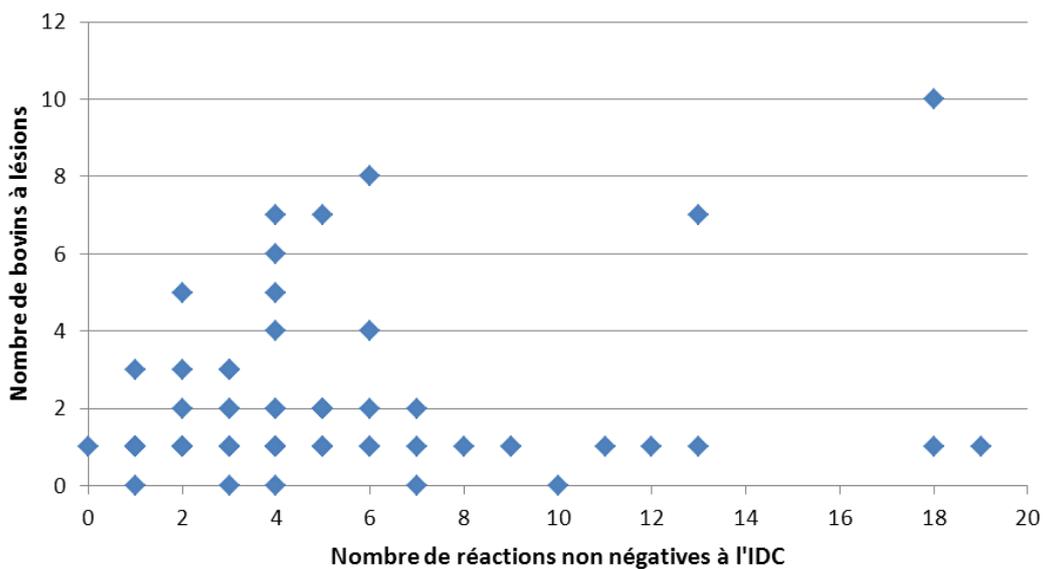


2.2 Analyse des données

2.2.1 Corrélation entre les réactions à l'IDC et le nombre de bovins à lésions

Nous pouvons déjà mettre en évidence que le nombre de bovins à lésions ne suit pas une relation simple avec le nombre de réactions non négatives à l'IDC (Figure 11).

Figure 11 : Nombre de bovins à lésions retrouvés à l'abattoir dans les 65 foyers de l'étude en fonction du nombre de réactions non négatives à l'IDC



Le nombre de réactions non négatives (positives ou douteuses) apparaît comme trop peu discriminant pour en tirer une relation exploitable : des foyers avec beaucoup de réactions révèlent finalement peu de bovins à lésions et inversement.

L'AFC a permis de représenter dans la un plan les résultats de l'IDC et le nombre de bovins à lésions (Figure 12). **Par souci de simplification face à un nombre restreint de données et conformément à une réalité épidémiologique de terrain, nous avons décidé de réunir les résultats positifs et les résultats grands douteux** (donc des bovins positifs à la tuberculine bovine) sous le terme de « Positifs et Grands douteux » **abrégé p&g**.

L'AFC permet de représenter graphiquement les relations entre différentes variables. L'axe horizontal permet d'expliquer 60% de l'inertie du nuage de point initial, l'axe secondaire 40%. Sur la Figure 12 les petits points représentent les foyers, et les gros points les variables (nombre de lésions, de pdtx et de p&g). **On constate que les résultats « petits douteux » semblent corrélés négativement au nombre de bovins à lésions dans les foyers contrairement aux résultats « positifs et grands douteux »**. Cela se vérifie en détaillant le nombre de lésions par foyer dans la représentation : les foyers se trouvant à proximité du point « IDC pdtx » présentent globalement peu de lésions.

Pour la suite du travail, nous avons travaillé en **répartissant les 65 foyers en différentes classes**. Tout d'abord nous souhaitions diviser les **foyers en deux classes selon le nombre de bovins à lésions retrouvés à l'abattoir** Ensuite, toujours en regroupant les positifs et les grands douteux (p&g) nous souhaitions **diviser les foyers selon le nombre de P&G et de petits douteux** qui avaient été mis en évidence lors de la campagne de prophylaxie précédant l'APDI en « $\leq x$ réactions » et « $\geq x$ réactions ».

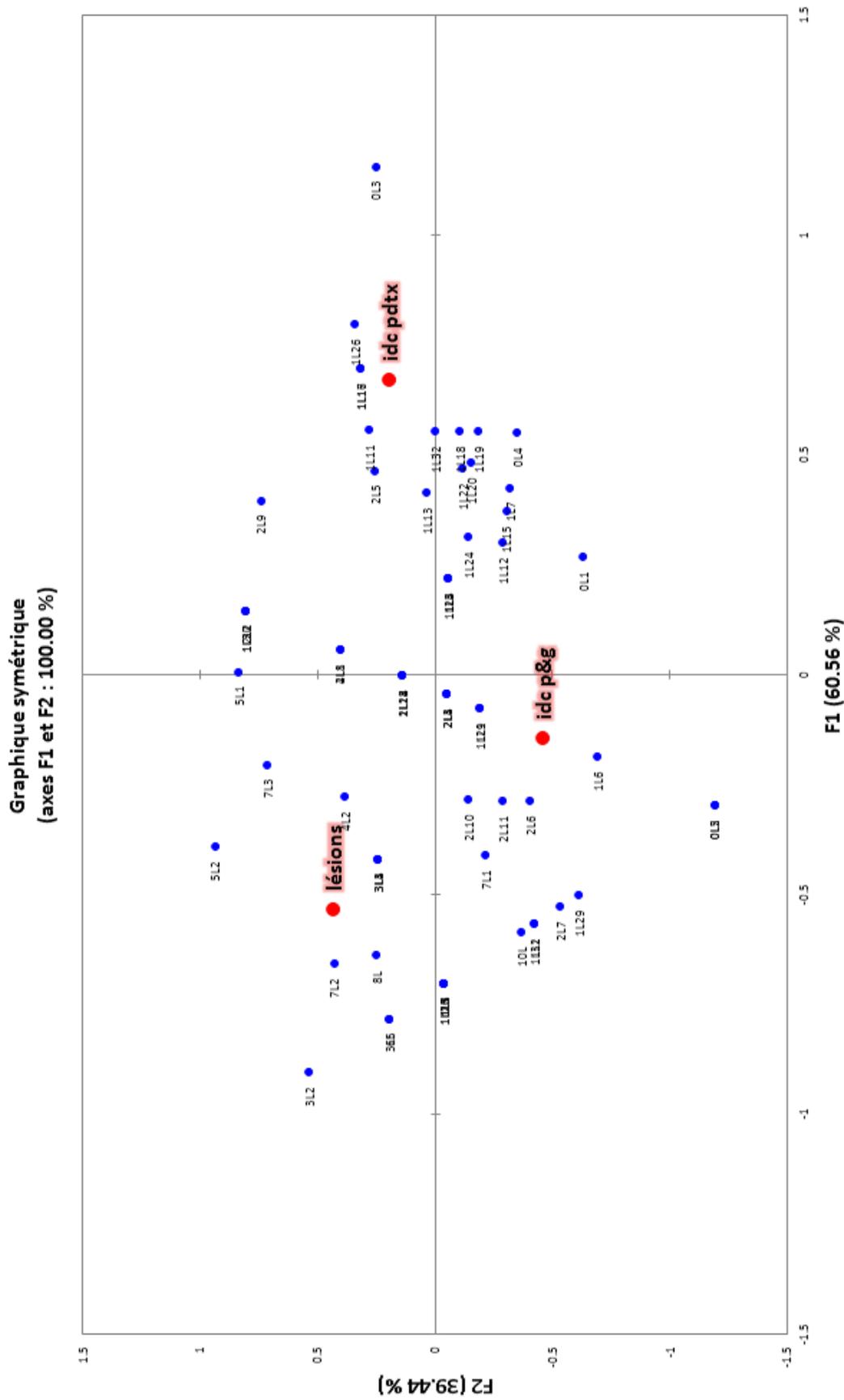
Afin de conserver des effectifs raisonnables de foyers dans chacun des 4 sous-groupes tout en permettant de mettre en évidence les relations précédemment mentionnées entre les résultats d'IDC et le nombre de bovins à lésions, les classes suivantes ont été choisies :

- **Bovins à lésions : [0 ou 1 bovin] et ≥ 2 bovins**. Avec seulement 5 foyers où aucun bovin à lésions n'avait été découvert, la création d'une classe [0 bovin] s'opposant à une classe ≥ 1 bovin à lésions] n'a pas été retenue par souci de puissance statistique.

- **Petits douteux : ≤ 2 pdtx] et ≥ 3 pdtx]**

- **Positifs et grands douteux : ≤ 2 p&g] et ≥ 3 p&g]**

Figure 12 : Représentation graphique d'une analyse factorielle des correspondances menée sur les résultats d'IDC (nombre de réactions) et les résultats d'abattoirs (nombre de bovins à lésion) sur les 65 foyers de l'étude.



Après définition des classes, le nombre moyen d'animaux à lésion a été calculé dans chaque classe (Tableau 1).

Tableau 1 : Nombre moyen d'animaux à lésion dans les 4 classes de foyers (effectif dans la classe considérée)

	P&G ≤ 2	P&G ≥ 3
pdtx ≤ 2	1,6 (29)	3,6 (15)
pdtx ≥ 3	2,3 (11)	0,9 (10)

Dans un but exploratoire, un risque $\alpha = 20\%$ avait été choisi. Une différence significative a été mise en évidence entre : 1,6 et 3,6 ; 1,6 et 0,9 ; 3,6 et 0,9 ; 2,3 et 3,6 ainsi que 2,3 et 0,9.

Au sein des foyers les résultats « positifs et grands douteux » ne sont pas corrélés (test de Spearman). Par contre les résultats « positifs » d'une part et « grand douteux » d'autre part sont faiblement corrélés (corrélation = 0,3 avec $p = 1,5\%$).

Avec ces résultats, il est possible poursuivre l'analyse univariée et de quantifier l'association brute entre les classes réactionnelles et les classes de bovins à lésions (Tableaux 2)

Tableaux 2a, 2b et 2c : Associations brutes entre le nombre de réactions à l'IDC et le nombre de bovins à lésions. Les p indiqués proviennent de test de χ^2 ou de Fisher.

Nombre de bovins à lésions				p = 4,5%
	≥ 2	0 ou 1		
≥ 3 pdtx	5	16	21	
≤ 2 pdtx	22	22	44	
	27	38	65	

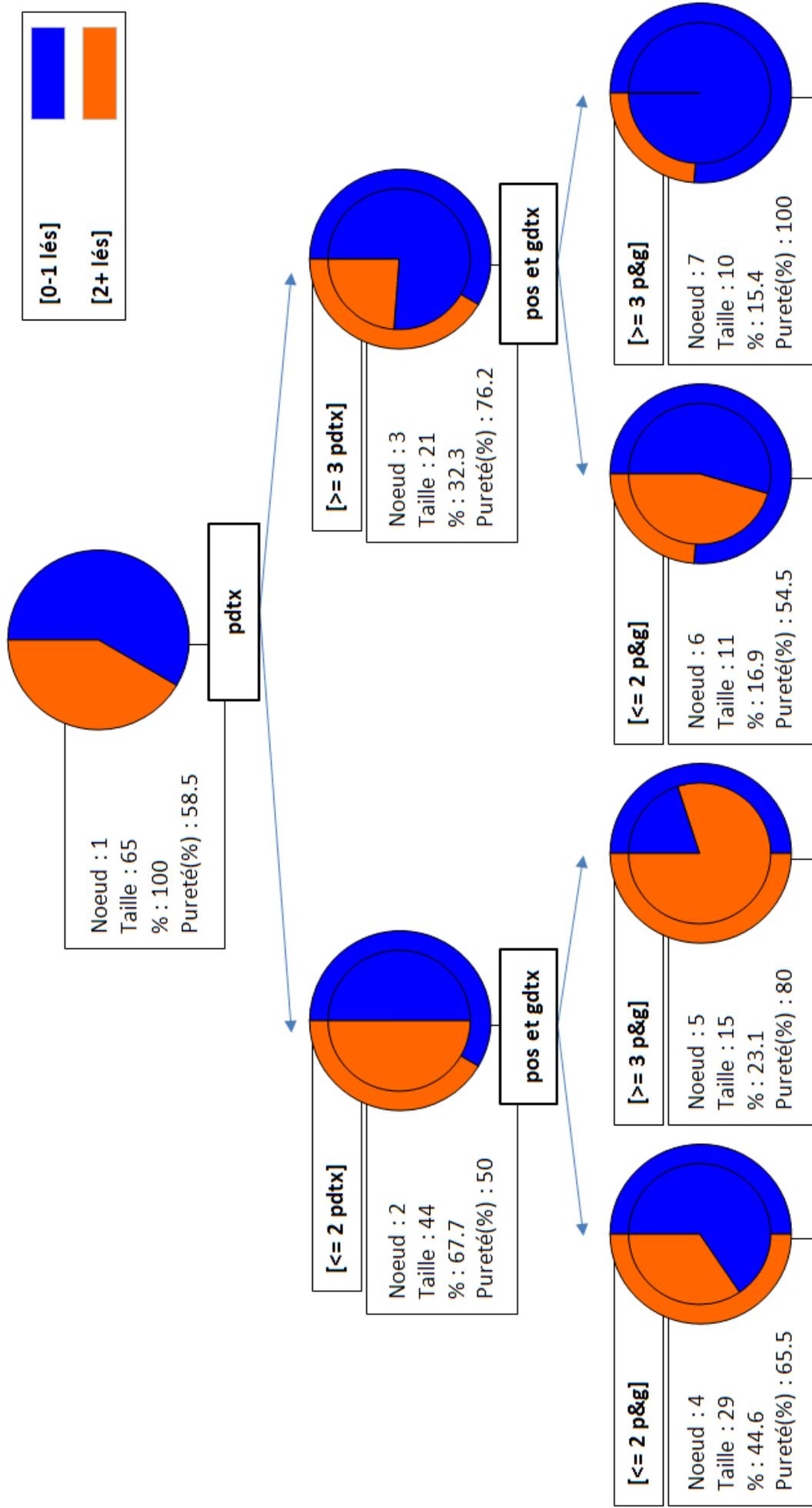
Détail parmi les foyers où pdtx ≤ 2

Nombre de bovins à lésions				p = 0,42%
≤ 2 pdtx	≥ 2	0 ou 1		
≥ 3 p&g	12	3	15	
≤ 2 p&g	10	19	29	
	22	22	44	

Détail parmi les foyers où pdtx ≥ 3

Nombre de bovins à lésions				p = 2,2%
≥ 3 pdtx	≥ 2	0 ou 1		
≥ 3 p&g	0	10	10	
≤ 2 p&g	5	6	11	
	5	16	21	

Figure 13 : Arbre de classification des 65 foyers de tuberculose bovine selon le nombre de résultats petits douteux et positifs et grands douteux aux séries d'IDC précédant la mise sous APDI.



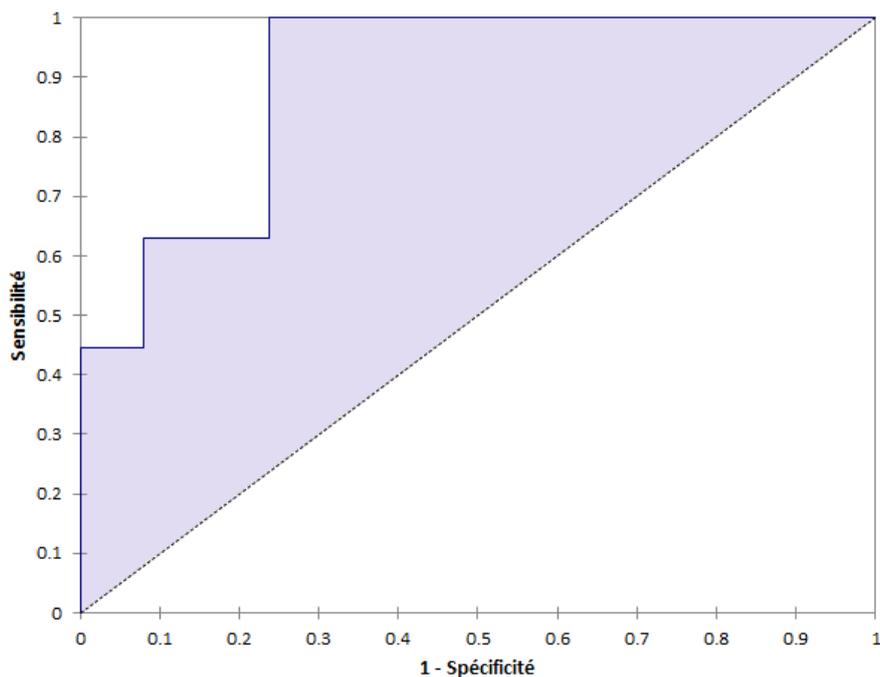
On constate que l'association brute entre l'appartenance à une classe lésionnelle et l'appartenance à une classe réactionnelle est significative au risque $\alpha = 5\%$.

Il faut souligner que la même démarche effectuée sur des taux de réaction n'a pas donné de résultats significatifs. Ceci est une autre raison pour laquelle ce travail s'est concentré sur le nombre de réaction obtenus à l'IDC plutôt qu'aux taux.

Il est alors possible de faire tracer par le logiciel XLSTAT© un **arbre de classification**. Notre but était de vérifier si les deux **variables descriptives** (appartenance à une des deux classes pour les pdtx et les p&g) permettent de prédire efficacement une **variable dépendante** (le nombre de bovins à lésions retrouvés dans les foyers) (Figure 13 page précédente).

Un arbre avec cette organisation permet d'obtenir une courbe ROC (Figure 14). L'aire sous la courbe est de **0,898**, preuve que les classes réactionnelles et lésionnelles retenues soutiennent un modèle de classification de bonne qualité.

Figure 14 : Courbe ROC associée à l'arbre de classification sélectionné.



2.2.2 Corrélation entre les résultats d'interféron et le nombre de bovins à lésion

L'analyse des données concernant les résultats de dosage d'IFN γ n'a pas donné de résultats exploitables outre qu'un nombre plus important de résultats positifs à l'interféron implique a priori un plus grand nombre de bovins à lésions (Tableau 3). D'une part nous disposons d'un nombre de foyers encore plus réduits (53) ce qui limite l'exploitation statistique des résultats. D'autre part le dosage de l'interféron gamma est un **examen complémentaire qui est effectué conditionnellement aux résultats d'IDC**. En effet tous les bovins ne sont pas

testés et d'une manière générale **le dosage est réservé aux petits douteux et, depuis 2012, aux grands douteux**, d'où un certain biais d'échantillonnage.

Tableau 3 : Nombre moyen de bovins à lésion dans les foyers en fonction des résultats obtenus suite au test de l'interféron gamma.

	Résultats positifs		Résultats positifs ou divergents	
	0 (n = 29)	≥ 1 (n = 24)	0 ou 1 (n = 26)	≥ 2 (n = 27)
Moyenne lésions	1,83	2,46	2,11	2,11

La moyenne du nombre de bovins à lésions dans les foyers où aucun résultat positif à l'interféron n'a été observé (1,83) n'est significativement pas différente de la moyenne du nombre de bovins à lésions dans les foyers où au moins un résultat positif a été observé (2,46) au risque $\alpha = 5\%$ (test de Student).

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le nombre de bovins à lésion est associé de manière significative au nombre de petits douteux observés suite à l'IDC. Or le nombre d'IFN γ effectué dans les foyers dépend aussi directement du nombre de douteux puisque ce sont ceux-là qui sont testés. Cela explique les résultats ci-dessous (Tableau 4).

Tableau 4 : Données relatives à l'examen interféron effectué dans les foyers en fonction des résultats obtenus à l'IDC

	p&g ≤ 2 pdx ≤ 2	p&g ≥ 3 pdx ≤ 2	p&g ≤ 2 pdx ≥ 3	p&g ≥ 3 pdx ≥ 3
Moyenne animaux à lésion	1,6 (29)	3,6 (15)	2,3 (11)	1,1 (10)
Nombre moyen d'IFN pos ou div	1,2 (17)	1,9 (8)	1,6 (9)	4,6 (9)
Nombre moyen d'IFN réalisés	2,9	3,8	4,2	9,2
% IFN pos ou div / IFN réalisés	54%	50%	37%	49%

On constate que le nombre moyen d'animaux à lésion n'est a priori pas corrélé à un nombre d'interférons positifs ou divergents. Dans les quatre classes retenues précédemment, les taux d'interféron positif ou divergents sont comparables.

La consultation de la base de donnée a permis d'isoler 457 résultats « petit douteux » dans les 93 foyers associés à 428 bovins (29 avec 2 résultats « petit douteux »). Sur les 428 bovins, 402 étaient documentés pour les résultats IFN avec 1349 résultats au total dont :

- 134 bovins ont présenté au moins un résultat IFN divergent ou positif. Sur ces 134 bovins, 5 bovins ont présenté des lésions de tuberculose (2 IFN γ positif, 2 ESAT positif, 1 BOVIGAM positif), et 1 bovin petit douteux avait un résultat IFN γ positif sans lésion macroscopique, mais histologie +, culture + avec mise en évidence de *M. bovis* et PCR +.

- 239 bovins n'ont eu que un ou des résultats négatifs à toutes leurs analyses interféron. Aucune lésion n'a été observée sur 114 de ces bovins à l'abattage.

Le test de Fisher exact d'une telle répartition donne un $p = 0,57\%$ donc l'association brute entre un test IFN γ positif ou divergent et la présence de lésions tuberculeuses macroscopiques, chez les bovins petits douteux des foyers, est significative.

2.2.3 Corrélation entre le type de production et le nombre d'animaux à lésions

Nous avons cherché à mettre en évidence une corrélation entre le type de production de l'élevage foyer et le nombre de bovins à lésion retrouvés après abattage. La principale difficulté a été le faible nombre de foyers en production laitière ou mixte (moins de 1 élevage sur 7) associé au petit nombre de foyers exploitables.

Nous avons procédé dans un premier temps à une analyse univariée sur le total des 93 foyers de la période 2010 à 2012. En travaillant sur 93 foyers il était possible de considérer également la classe [0 animal à lésions] (Tableau 5).

Tableau 5 : Association brute entre type de production et nombre de bovins à lésions

	≥ 1 lésion	0 lésion	Total
Laitier + Mixte	11	1	12
Allaitant	62	19	81
Total	73	20	93

p = 21% (Fisher)

	≥ 2 lésions	0 ou 1 lésion	Total
Laitier + Mixte	5	7	12
Allaitant	31	50	81
Total	36	57	93

p = 53% (Fisher)

Les résultats restent non significatifs avec les 65 foyers de l'étude. Le type de production et le nombre de bovins à lésions ne semblent pas associés (association brute). Toutefois le type de production joue probablement le rôle de facteur de confusion, c'est pour cela qu'elle sera introduite comme variable d'ajustement dans l'analyse multivariée.

2.2.4 Corrélation entre la taille du cheptel et le nombre d'animaux à lésions

Nous avons cherché à mettre en évidence une corrélation entre la taille du cheptel foyer et le nombre de bovins à lésion retrouvés après abattage. La difficulté a été de créer des classes d'effectifs suffisants tout en donnant un sens zootechnique à ces classes (Tableau 6).

Tableau 6 : Association brute entre taille du cheptel et nombre de bovins à lésions

Taille	≥ 2 lésions	0 ou 1 lésion	Total
[0-100]	3	9	12
[100-200]	18	12	30
[200-498]	13	38	51
Total	34	59	93

$\chi^2 = 10.42$ avec 2 degrés de liberté soit **p = 0.5%**

Il existe une différence significative dans la distribution des foyers selon leur taille en fonction du nombre de bovins à lésions. Les foyers dont le cheptel regroupe entre 100 et 200 bovins ont révélé proportionnellement plus 0 ou 1 bovin à lésion que les foyers avec moins de 100 animaux ou plus de 200 animaux. L'interprétation de ce résultat est difficile.

L'association brute entre taille du cheptel et nombre de bovins à lésions n'est pas significative lors qu'on la calcule avec deux classes : « moins de 100 » et « plus de 100 ».

2.2.5 Analyse multivariée : régression logistique

Le modèle de régression logistique permet de prédire l'effet d'une ou plusieurs variables sur une variable à réponse binaire, dans notre cas la découverte de 0 ou 1 à bovin à lésions contre 2 bovins à lésions et plus. Cette dichotomie a été choisie comme mentionné précédemment pour pallier au faible effectif de la classe [0 bovin à lésions] qui ne concerne que 5 foyers sur les 65. Nous avons testé plusieurs modèles, d'abord en ne considérant que les résultats d'IDC ensuite en intégrant les variables zootechniques. Les résultats fournis sont les Odds Ratios (OR) ajustés des variables d'entrée du modèle. Un résultat est considéré comme significatif si l'intervalle de confiance de l'OR ajusté n'inclut pas 1. Le modèle retenu tient compte de deux facteurs d'élevage (production et taille) comme facteurs d'ajustement, ce qui en fait un modèle plus robuste qu'un modèle n'incluant que des données lésionnelles pour lesquelles il pourrait subsister des biais de confusion.

Modèle retenu :

- Variable de sortie : binaire, nombre d'animaux à lésions 0 ou 1 / ≥ 2
- Entrée 1 : binaire, nombre de petits douteux ≤ 2 / ≥ 3
- Entrée 2 : binaire, nombre de positifs et grands douteux ≤ 2 et ≥ 3
- Entrée 3 : binaire, production A et M+L
- Entrée 4 : binaire, taille de l'élevage <200 et >200

OR ajusté [petits douteux ≥ 3] = 0.261 [0.076 ; 0.893]

OR ajusté [positifs et grands douteux ≥ 3] = 2.031 [0.676 ; 6.103]

OR ajusté [A] = 0.672 [0.229 ; 1.972]

OR ajusté [> 200] = 2.260 [0.471 ; 10.848]

Le seul résultat significatif mis en évidence par la régression logistique est l'influence du nombre de petits douteux sur l'appartenance du foyer à une des deux classes lésionnelles. Pour un foyer, avoir présenté 3 résultats petits douteux ou plus semble favoriser la découverte de 0 ou 1 bovin à lésions, donc peu de lésions, donc potentiellement moins d'excrétion que dans un élevage où 2 bovins et plus ont été découverts.

Il n'a pas été possible de trouver un résultat significatif concernant les positifs et grands douteux même si les résultats décrits ci-dessus tendent à montrer que la mise en évidence d'un plus grand nombre de positifs et grands douteux semble favoriser la découverte de 2 bovins à lésions ou plus (cf. analyses univariées).

3. Discussion

La question posée initialement était de savoir s'il était possible de déterminer des profils de risque d'excrétion dans les foyers de tuberculose bovine en vue de caractériser le risque d'exposition humaine. Nous avons pris comme hypothèse de départ qu'un bovin avec des lésions quelles qu'elles soient était potentiellement excréteur et que donc, plus le nombre de bovins à lésions qui avaient été retrouvés dans un foyer était important, plus l'excrétion globale du cheptel était importante et donc plus le risque d'exposition de l'éleveur était important.

Cette hypothèse de départ, s'entendant bien sur le plan biologique, n'est confortée que par un petit nombre de références bibliographiques. En cela nous n'avons pas hiérarchisé un profil lésionnel par rapport à un autre, tout d'abord car la littérature ne permet pas d'en discuter les détails mais aussi car cette donnée n'était pas disponible pour ce travail. En outre nous n'avons pas pris en compte les bovins tuberculeux mais sans lésions macroscopiques, considérant qu'ils n'étaient pas excréteurs – ou du moins beaucoup moins que les bovins à lésions macroscopiques - ce qui pourrait être une source d'imprécision dans la prise en compte du profil d'excrétion d'un foyer.

Il est intéressant de rappeler que ce travail a été réalisé à partir de données d'IDC dont les acteurs de santé animale connaissent les limites que ce soit en termes de sensibilité ou de spécificité. En outre nous avons été confrontés à l'aspect arbitraire de la législation qui s'oppose au continuum biologique sur lequel repose le mécanisme de l'intradermoréaction. Ainsi la loi considère comme positif pour la tuberculine bovine un bovin dont le pli de peau dépasse ou égale 4 mm mais comme douteux un bovin dont le pli est strictement inférieur à 4 mm. Un nombre non négligeable de bovins dans la base ont présenté des mesures de plis de peau à entre 3,8 mm et 4,2 mm : non seulement cette précision au dixième de millimètre peut-être soumise à une importante variabilité mais elle conduit également à placer dans deux classes différentes des bovins dont la différence de réaction ne dépasse pas le demi-millimètre. C'est une réalité à considérer. Une autre difficulté a été d'exploiter la base de données qui pouvait parfois comporter des erreurs ou des données manquantes et qu'il a fallu corriger et compléter par recoupement avec d'autres données. En particulier des différences entre les valeurs numériques de plis de peau et le classement des animaux dans telle ou telle catégorie de réagissant ont été observées à de multiples reprises.

Enfin nous avons été confrontés à la difficulté de traitement que pouvaient représenter les foyers en abattage partiel qui représentaient entre 2010 et 2012 70% des foyers de Côte-d'Or. L'abattage partiel implique en effet un abattage des animaux étalé dans le temps, rendant difficile sinon impossible le calcul de taux d'animaux à lésions. Malgré cela, le raisonnement en chiffres bruts a quand même permis de confronter les profils lésionnels des foyers avec les résultats de prophylaxie précédant immédiatement la mise sous APDI. Nous n'avons pas tenu compte des résultats de prophylaxie ultérieurs à la mise sous APDI car le but était de rechercher des facteurs observables avant la découverte du foyer et si possible le plus près possible de cette découverte.

En partant de cette hypothèse de départ nous avons utilisé les résultats d'IDC pour déterminer si un profil réactionnel aux tests de prophylaxie pouvait prédire le profil lésionnel d'un foyer. Nous avons alors mis en évidence quatre groupes distincts.

- Le groupe [≤ 2 p&g et ≤ 2 pdx] où 0 ou 1 bovin à lésions est retrouvé dans 2/3 des cas représenterait un foyer en début d'infection avec peu d'animaux réagissant et donc un risque d'excrétion potentiellement plus faible.

- Le groupe [≤ 2 p&g mais ≥ 3 pdx] où 0 à 1 bovin à lésion est retrouvé dans un peu plus de 50% des foyers représenterait un foyer où l'infection est plus ancienne que dans le groupe précédent avec plus d'animaux réagissant.

- Le groupe [≥ 3 p&g mais ≤ 2 pdx] où plus de 2 bovins à lésions sont retrouvés dans 80% des cas représenterait un stade encore plus avancé de l'infection dans le cheptel. Les animaux positifs ou grands douteux (réaction positive à la tuberculine bovine) y sont plus nombreux d'où un nombre plus grand de bovins à lésions. Les élevages concernés présenteraient donc probablement un risque d'excrétion plus élevé.

- Enfin, le groupe des 10 foyers [≥ 3 p&g et ≥ 3 pdx] demande plus d'explications. Dans chacun de ces 10 foyers, 0 ou 1 bovin à lésion est retrouvé malgré un nombre important de bovins réagissant (dont des positifs et grands douteux). Une hypothèse est que ces cheptels

ont peut-être hébergé un unique bovin « super excréteur » qui a contaminé plusieurs autres bovins. Les bovins réagissant du foyer auraient été infectés à un moment suffisamment proche de leur abattage pour ne pas présenter de lésion tout en ayant des réactions non négatives à l'IDC. Même si 0 ou 1 animal présente des lésions à l'abattage, un tel profil lésionnel prouve néanmoins que l'excrétion dans le foyer est suffisamment importante pour conduire à la réaction de nombreux animaux à la tuberculine bovine. Ce profil est donc à considérer avec précaution dans une problématique d'excrétion des bovins.

L'existence de ce dernier groupe de cheptel mériterait d'être confirmée et détaillée dans une étude ultérieure fondée si possible sur un nombre plus important de foyers et pourquoi pas dans d'autres régions de France. La principale difficulté dans ce cas-là serait l'uniformisation des données. Pour exemple, au début de ce travail nous nous sommes intéressés aux bilans lésionnels et réactionnels des foyers de Dordogne pour les confronter à ceux de Côte-d'Or. Deux problèmes de taille nous ont néanmoins conduits à abandonner cette piste de recherche : premièrement les données réactionnelles disponibles n'étaient reliées que pour un trop petit nombre de foyers aux données lésionnelles, bien que très précises et informatives ; et deuxièmement le test de dépistage réalisé en Dordogne est l'intradermoréaction simple dont les résultats douteux ne sont pas comparable à des petits douteux d'IDC (information supplémentaire de la tuberculine aviaire). La généralisation de l'IDC serait idéale pour permettre une étude de plus grande échelle sur les profils de risque d'excrétion basés sur les résultats de prophylaxie. Néanmoins cette initiative serait difficilement perçue car chronophage pour les acteurs de terrain et onéreuse pour les pouvoirs publics. Enfin, un enregistrement plus détaillé des lésions trouvées sur les bovins des foyers permettrait d'affiner les résultats quant aux profils lésionnels des foyers.

Concernant la recherche de facteurs d'élevage prédictifs d'un profil de risque d'excrétion nous n'avons pas trouvé de relation significative entre le type de production et la taille de l'élevage avec le nombre de bovins à lésions. Ce résultat pourrait provenir d'un manque de puissance statistique vu le faible nombre de foyers exploités (93) ou alors d'une relation inexistante entre ces paramètres. Une étude à grande échelle menée en Angleterre par Shittu *et al.* (2013) irait plutôt dans le sens de la deuxième hypothèse puisqu'avec plus de 3000 troupeaux, cette relation n'a pu être mise en évidence.

Grâce au croisement des résultats (même parcellaires) de ce travail et des informations bibliographiques, nous avons proposé une synthèse concernant le risque d'exposition des travailleurs en contact des bovins dans les foyers de tuberculose bovine. Un schéma de « gradient de risque » est présenté ci-dessous (Figure 15). En supposant qu'un bovin présentant des lésions macroscopiques soit excréteur, on peut faire l'hypothèse qu'un éleveur laitier s'occupant de la traite deux fois par jour sera bien plus exposé aux aérosols infectieux de par la promiscuité quotidienne avec ses animaux associé au faible volume des salles de traites, pièces plutôt confinées propices à l'inhalation d'aérosols. Aux aérosols respiratoires peuvent s'ajouter, dans de rares cas de formes urinaires et digestives, les aérosols dégagés lorsque les vaches urinent ou défèquent pendant la traite. Nous avons

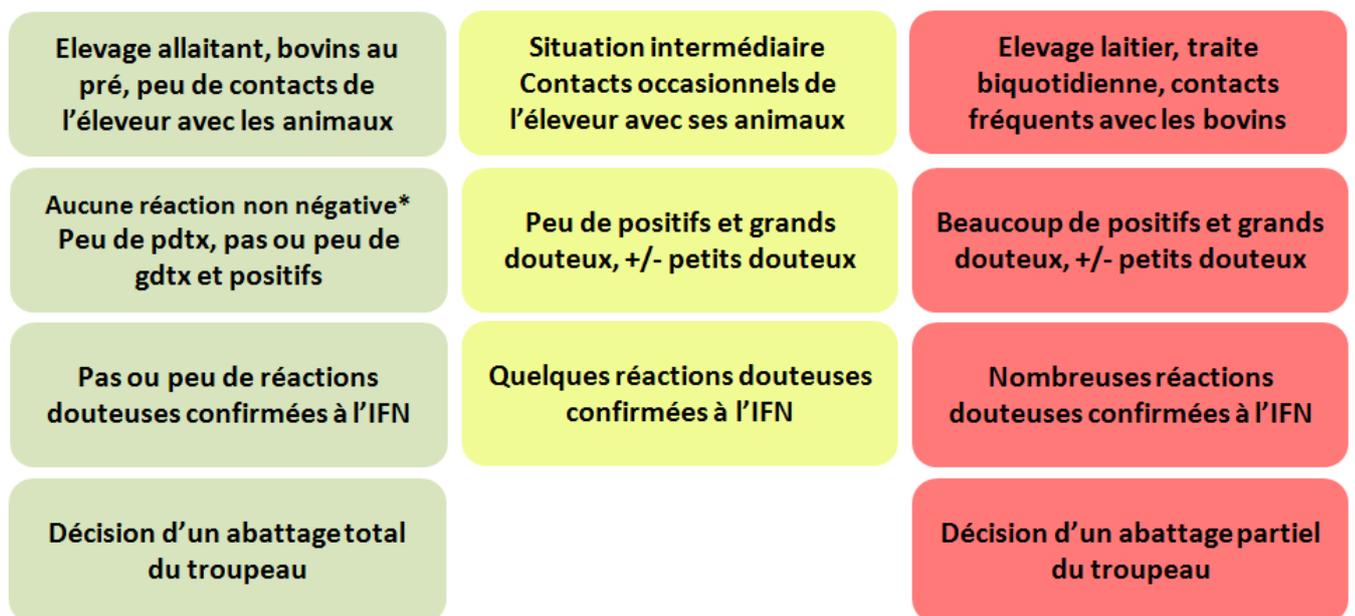
donc considéré que l'élevage laitier traditionnel (donc hors robot de traite) représentait un risque supplémentaire pour l'éleveur par rapport à un élevage allaitant où la distance et la fréquence des contacts entre l'éleveur et ses animaux sont beaucoup plus réduits.

Nous avons également considéré que l'abattage sélectif constituait un facteur de risque potentiel supplémentaire d'exposition, en retardant l'élimination d'animaux infectés encore non mis en évidence par les tests de dépistage.

Ces hypothèses sont à considérer à l'aune des résultats d'IDC. Hormis le cas relatif au groupe [≥ 3 p&g et ≥ 3 pdtx], face à un nombre de positifs et grands douteux important, on peut raisonnablement s'attendre à un nombre plus élevé d'animaux à lésions, donc potentiellement plus d'excrétion. Pour un cheptel correspondant à la situation [≥ 3 p&g et ≥ 3 pdtx] il est probable que l'excrétion soit également plus élevée. Comme expliqué plus haut, bien qu'un seul bovin à lésion soit retrouvé à l'abattage, un tel profil dénote *a priori* une excrétion active au sein du troupeau.

On peut également supposer que plus les résultats douteux sont confirmés par IFNy plus il y a de chance de trouver des bovins à lésions à l'abattage. Ces réflexions restent valables en cas de découverte fortuite d'un bovin à lésions à l'abattoir.

Figure 15 : Gradient de risque supposé d'exposition pour les éleveurs des foyers de tuberculose bovine déduit des profils réactionnels et des facteurs d'élevage



RISQUE D'EXPOSITION

* Suite à la découverte fortuite d'un ou plusieurs bovins à lésions à l'abattoir

Conclusion

L'exploitation de la base de donnée de la Direction Départementale de la Protection des Populations de Côte-d'Or nous a permis de mettre en évidence une relation entre les résultats d'intradermoréaction comparative obtenus dans les foyers avant leur mise sous APDI entre 2010 et 2012 et le nombre de bovins à lésions retrouvés dans ces foyers après abattage des animaux.

Nous avons d'abord constaté que l'abattage partiel pouvait être à l'origine d'une perduration d'animaux présentant au final des lésions à l'abattoir dans les foyers et donc d'une perduration parfois de plusieurs mois d'animaux potentiellement excréteurs en contact avec les autres animaux et les professions exposées.

Ensuite, nous avons mis en évidence bien que les résultats aient manqué de puissance statistique que le profil réactionnel d'un foyer évoluait pour partie dans le même sens que son profil lésionnel : plusieurs réactions positives ou grand douteux à l'IDC sont plus souvent accompagnées de la découverte de plus de 1 bovins à lésions tuberculeuses macroscopiques tandis qu'un petit nombre de réactions non négatives à l'IDC est plus souvent accompagné de la découverte d'aucun ou un bovin à lésions. Reste le cas difficilement interprétable des foyers où un nombre important de positifs et grands douteux est accompagnés d'un nombre important également de petits douteux et où aucun ou 1 bovin à lésion est retrouvé après abattage.

Enfin, nous n'avons pas mis en évidence de relation entre le type de production et le taille du cheptel du foyer avec le profil lésionnel.

Pour répondre à la question posée impliquant l'élaboration d'un gradient de risque pour la santé publique, il est déjà possible de s'avancer sur l'exposition en admettant qu'un éleveur en laitier (hors robot de traite) sera plus exposé aux aérosols infectieux de ses animaux qu'un éleveur en allaitant et que cette exposition aura d'autant plus de risque de perdurer si l'élevage foyer est traité en abattage partiel. Concernant l'apport informatif des résultats de prophylaxie, la mise en évidence de plusieurs grands douteux et de plusieurs positifs à l'IDC dans un cheptel de vaches laitières pourrait justifier un regard plus appuyé sur l'exploitation concernée par les acteurs de la santé publique et éventuellement une discussion plus approfondie avec l'éleveur sur la question de la mise en place d'un plan d'abattage partiel. Bien entendu, le caractère prédictif des résultats d'IDC restant incertain, les prises de décision par les acteurs de santé humaine devront être revues à l'aune des résultats d'abattage : inspection des carcasses confrontée aux examens de culture, d'histologie et de PCR qui viendront tempérer ou confirmer les résultats d'IDC.

Bibliographie

ANSES (04 décembre 2012) Saisine n°2012-SA-0011 – Avis relatif à l'utilisation de certains tests de diagnostic de la tuberculose bovine – Deuxième partie : proposition d'un protocole décisionnel simplifié et utilisable sur l'ensemble du territoire français métropolitain. *In : Site de l'ANSES. Avis et rapports en alimentation et santé animale.*
[<http://www.anses.fr/Documents/SANT2012sa0011b.pdf>].

BENET J-J, BOSCHIROLI M-L, DUFOUR B., GARIN-BASTUJI B. (2006) Lutte contre la tuberculose bovine en France de 1954 à 2004 : Analyse de la pertinence épidémiologique de l'évolution de la réglementation. *Epidémiol. et santé anim.*, **50**, 127-143.

BENET J-J, PRAUD A. (2011) *La tuberculose animale*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Maladies Contagieuses, 79 p. Version de juillet 2011.

CASSIDY JP, BRYSON DG, NEILL SD (1999) Tonsillar lesions in cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis*. *Vet Rec.*, **144**(6), 139-42.

CASSIDY JP (2006). The pathogenesis and pathology of bovine tuberculosis with insights from studies of tuberculosis in humans and laboratory animal models. *Vet Microbiol*, **112**(2-4), 151-61.

CASSIDY JP (2008). The pathology of bovine tuberculosis : time for an audit. *Vet J.*, **176**(3), 263-4.

COSTELLO E, EGAN JW, QUIGLEY FC, O'REILLY PF (1997). Performance of the single intradermal comparative tuberculin test in identifying cattle with tuberculous lesions in Irish herds. *Vet Rec.*, **141**(9), 222-4.

DANNENBERG Jr AM (1999). Pathophysiology: basic aspects. In: Schlossberg, D. (Ed.), *Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections*. Quatrième édition. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 17–47.

De la RUA-DOMENECH R. (2006) Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, **86**(2), 77-109.

De la RUA-DOMENECH R, GOODCHILD AT, VORDERMEIER HM, HEWINSON RG, CHRISTIANSEN KH, CLIFTON-HADLEY RS (2006). Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Res Vet Sci.*, **81**(2):190-210.

DEAN GS, RHODES SG, COAD M, WHELAN AO, COCKLE PJ, CLIFFORD DJ, HEWINSON RG et al. (2005). Minimum infective dose of Mycobacterium bovis in cattle. *Infect Immun.*, **73**(10), 6467-71.

DEHAUMONT P. (mise à jour le 04 juillet 2012) Exposé des motifs du plan départemental de lutte contre la tuberculose bovine en Côte-d'Or. *In : Site de l'Etat en Bourgogne. Les services de l'Etat. Les directions départementales interministérielles. Direction départementale de la protection des populations. Lutte contre la tuberculose bovine en Côte-d'Or.* [en ligne]. Dijon : préfecture de la région Bourgogne. [[http://www.bourgogne.gouv.fr/ services-de-l-etat/les-directions-departementales-interministerielles/direction-departementale-de-la-protection-des-populations/33767](http://www.bourgogne.gouv.fr/services-de-l-etat/les-directions-departementales-interministerielles/direction-departementale-de-la-protection-des-populations/33767) (consulté le 8 janvier 2013).

FEDIAEVSKY A., BENET JJ, BOSCHIROLI ML, RIVIERE J, HARS J (2012). La tuberculose bovine en France en 2011, poursuite de la réduction du nombre de foyers. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **54**, 4-12.

FENELON JP (1981). Qu'est-ce que l'Analyse des Données ? Paris, Lefonen, 311 p.

FENHALLS G, WONG A, BEZUIDENHOUT J, VAN HELDEN P, BARDIN P, LUKEY PT, (2000). In situ production of interferon- γ , interleukin-4, and tumor necrosis factor- α mRNA in human lung tuberculous granulomas. *Infection and Immunity*, **68**, 2827–2836.

GALLAGHER J (1980). The role of other animals in the epidemiology of TB in the badger. *In: Badgers, Cattle and Tuberculosis. Report to the Right Honourable Peter Walker (Minister), Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, HMSO, London, pp. 86–98.*

GOODCHILD AV, CLIFTON-HADLEY RS (2001). Cattle-to-cattle transmission of Mycobacterium bovis. *Tuberculosis (Edinb)*, **81**(1-2), 23-41.

GRIFFIN JF, RODGERS CR, LIGGETT S, MACKINTOSH CG (2006). Tuberculosis in ruminants: characteristics of intra-tonsillar Mycobacterium bovis infection models in cattle and deer. *Tuberculosis (Edinb)*, **86**(6), 404-18

HARS J, RICHOMME C, RIVIERE J, FAURE E, BOSCHIROLI ML (2012). Dix années de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage française et perspectives. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **52**, 2-6.

KAO RR, GRAVENOR MB, CHARLESTON B, HOPE JC, MARTIN M, HOWARD CJ (2007). Mycobacterium bovis shedding patterns from experimentally infected calves and the effect of concurrent infection with bovine viral diarrhoea virus. *J R Soc Interface*, **4**(14), 545-51.

LIEBANA E, JOHNSON L, GOUGH J, DURR P, JAHANS K, CLIFTON-HADLEY R, SPENCER Y *et al.* (2008). Pathology of naturally occurring bovine tuberculosis in England and Wales. *Vet J.* **176**(3), 354-60.

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

MÜLLER B, DÜRR S, ALONSO S, HATTENDORF J, LAISSE CJ, PARSONS SD, *et al.* (2013). Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced Tuberculosis in Humans. *Emerg Infect Dis.* **19**(6), 899-908.

O'REILLY LM, COSTELLO E (1988). Bovine tuberculosis with special reference to the epidemiological significance of pulmonary lesions. *Ir Vet News*, **10**, 11-21

O'REILLY LM, DABORN CJ (1995). The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, **76** Supplement 1, 1-46

PALMER MV, WATERS WR (2006). Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis: what policy makers need to know. *Vet Microbiol.*, **112**(2-4), 181-90.

POLLOCK JM, RODGERS JD, WELSH MD, MCNAIR J (2006). Pathogenesis of bovine tuberculosis: the role of experimental models of infection. *Vet Microbiol*, **112**(2-4), 141-50.

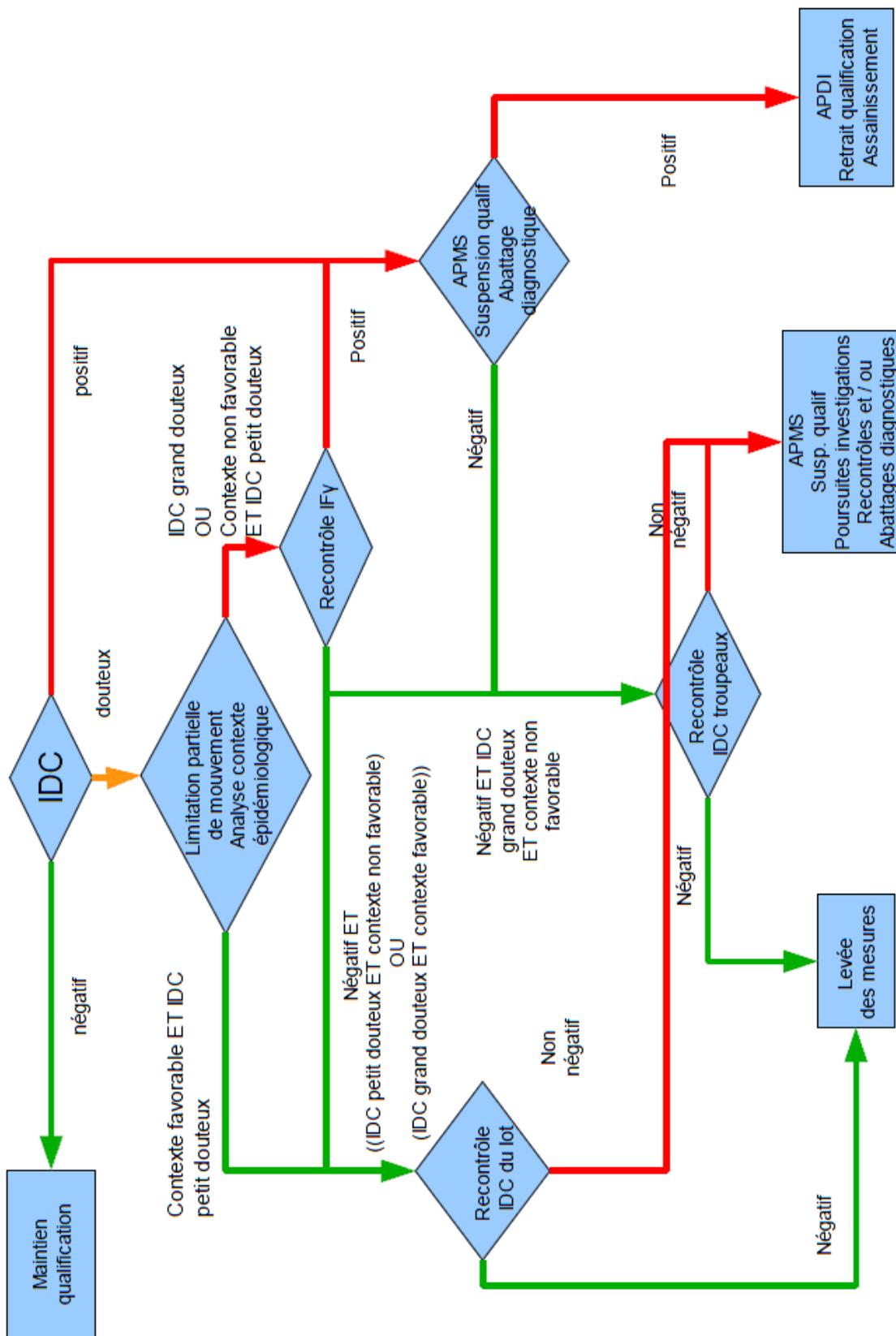
SHITTU A, CLIFTON-HADLEY RS, ELY ER, UPTON PU, DOWNS SH (2013). Factors associated with bovine tuberculosis confirmation rates in suspect lesions found in cattle at routine slaughter in Great Britain, 2003-2008. *Prev Vet Med*, **110**(3-4), 395-404.

WANGOO A, JOHNSON L, GOUGH J, ACKBAR R, INGLUT S, HICKS D, SPENCER Y *et al.* (2005). Advanced granulomatous lesions in *Mycobacterium bovis* –infected cattle are associated with increased expression of type I procollagen, cdWC1+ T cells and CD68+ cells. *Journal of Comparative Pathology*, **133**, 223–234.

WHIPPLE DL, BOLIN CA, MILLER JM (1996). Distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J Vet Diagn Invest*, **8**(3), 351-4.

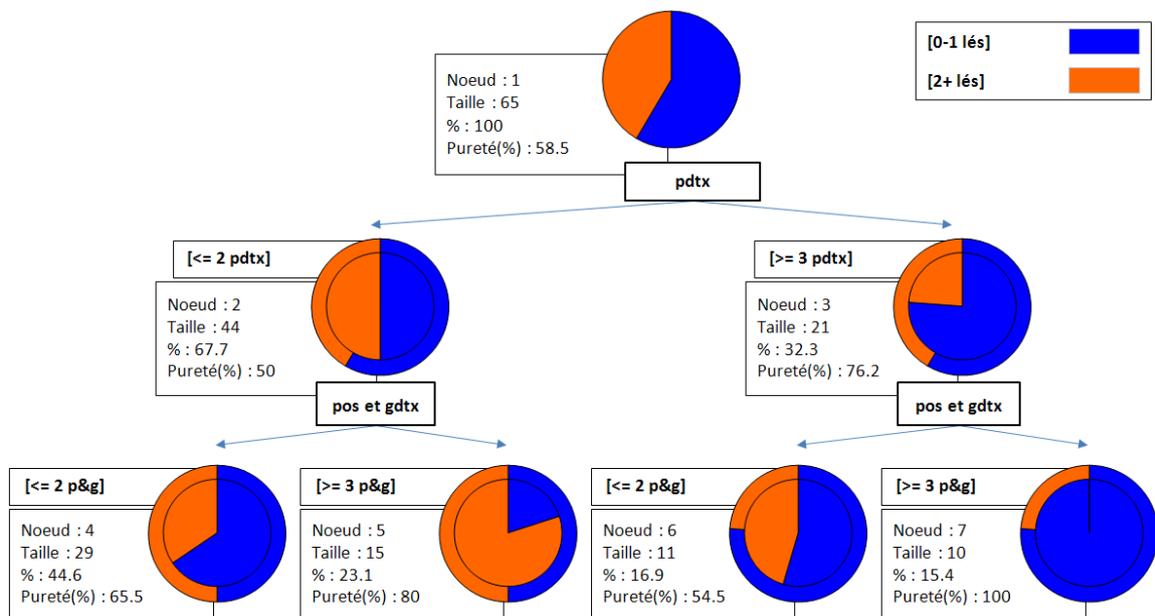
XLSTAT (mise à jour en 2013). Tutoriels pour XLSTAT. In Accueil – Centre d'apprentissage – Tutoriels. <http://www.xlstat.com/fr/centre-d-apprentissage/tutoriels.html>. Consulté entre mai et juin 2013.

Annexe 1 : conduite à tenir dans les élevages soumis à l'IDC



Source : NOTE DE SERVICE DGAL/SDSPA/N2011-8257 du 1^{er} décembre 2011

Annexe 2 : comment lire un arbre de classification CHAID ?



- Un arbre de classification CHAID se lit de **haut en bas**

- Les foyers ayant révélé 0 ou 1 bovin à lésions sont en foncé (bleu), les foyers à plus de 2 bovins à lésions sont en clair (orange), ce sont les **deux classes de la variable dépendante**, la variable sur laquelle se fonde la classification. L'arbre donne la distribution de ces deux classes sous forme de **diagramme circulaire**. Lorsqu'un diagramme provient d'un diagramme « père » on peut retrouver un **rappel de la distribution** de la variable dépendante du diagramme père en **pourtour du diagramme fils**.

- Ici le premier diagramme (nœud 1) représente la distribution des deux classes sur l'échantillon initial. On retrouve sa **Taille** (65 foyers), le pourcentage % de cette taille par rapport à la taille de l'échantillon initial (donc 100% dans le nœud 1) ainsi que le pourcentage de la classe prépondérante, la **Pureté** (ici 58.5% de [0-1 lésion])

- Ensuite, la première variable descriptive la plus discriminante est l'appartenance à la classe pour les petits douteux (étiquette sous le premier camembert du haut). S'ensuit une **première dichotomie** selon cette variable : à droite (nœud 3) les foyers où plus de 3 petits douteux avaient été mis en évidence, à gauche (nœud 2) moins de 2 petits douteux.

- Dans chacun des deux sous-groupes on peut à nouveau lire l'effectif (taille), la proportion de cet effectif par rapport à la population étudiée (%), et enfin la proportion de la classe de variable dépendante majoritaire (pureté).

- La **deuxième dichotomie** se fait dans les deux branches sur le nombre de p&g.

- **Exemples :**

- On peut lire dans le nœud 5 que 80% des foyers ayant présenté plus de 3 p&g et moins de 2 pdtx à l'IDC ont révélé plus de 2 bovins à lésions.

- On peut lire dans le nœud 7 que 100% des foyers ayant présenté plus de 3 p&g et plus de 3 pdtx à l'IDC ont révélé 0 ou 1 bovin à lésion.