



Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

**MASTER 2EME ANNEE**

Santé Publique Paris XI et Sciences et santé Paris XII

SPECIALITE

SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES MALADIES HUMAINES ET ANIMALES

Rapport de stage

**Evaluation du protocole diagnostique de la tuberculose bovine utilisant  
l'intradermotuberculation et le dosage de l'interféron gamma en parallèle  
dans les élevages foyers soumis à un abattage partiel**

Présenté par

Soline HOSTEING

Réalisé sous la direction de : Anne Praud et Barbara Dufour

Organisme : Anses, unité EPIMAI, Maisons-Alfort

Période du stage : du 06/01/14 au 13/06/14

Date de soutenance : 25 juin 2014

Année universitaire 2013-2014

## Résumé court

La tuberculose bovine est une maladie infectieuse contre laquelle la lutte a été initiée il y a une soixantaine d'années, ce qui a permis de réduire considérablement sa prévalence au cours du demi-siècle passé. Elle porte atteinte au système respiratoire des bovins et ses signes cliniques passent actuellement inaperçus, mais son importance sur le plan économique est considérable. La maladie persiste dans certains départements français. C'est le cas notamment en Côte d'Or où on constate un nombre de cheptels-foyers important. La gestion de ces foyers se faisait depuis 1999 par un abattage total systématique des bovins de l'exploitation, mais l'augmentation de la taille des cheptels associée à la diminution du nombre de bovins infectés par foyer ainsi que les cas de résurgence dans des foyers anciennement assainis par abattage total ont remis à l'ordre du jour la possibilité de pratiquer l'abattage partiel des seuls bovins réagissant aux tests de dépistage.

La procédure d'abattage partiel requiert des tests de dépistage ayant une sensibilité excellente afin d'identifier et d'éliminer l'ensemble des bovins infectés le plus rapidement possible. En France, les bovins des élevages-foyers en abattage partiel sont soumis à un protocole de tests prévoyant l'utilisation de l'intradermotuberculination (ID) et du dosage de l'interféron gamma (IFN) en parallèle. Cette étude présente une analyse des résultats du protocole de dépistage en parallèle utilisé en Côte d'Or entre 2009 et 2013. Elle a été conduite à partir de la base de données de la DDPP21 où étaient renseignés les résultats d'intradermotuberculination et d'interféron des bovins provenant des 78 foyers de tuberculose en abattage partiel entre 2009 et 2013.

Pour les cheptels-foyers, qu'ils suivent une procédure d'abattage partiel ou total, les recontaminations sont fréquentes (21%) et la majorité des foyers sont détectés suite à l'investigation d'une IDC non négative en prophylaxie (90%). Dans 76% des cheptels-foyers, on ne trouve pas plus d'un bovin infecté entre le début et la fin de l'APDI.

Sur la zone et la période d'étude, 6402 bovins ont pu être épargnés grâce aux procédures d'abattage partiel, ce qui représente une économie directe importante. Cependant, les durées médiane et moyenne des APDI des cheptels suivant un abattage partiel sont significativement plus élevées que pour les cheptels suivant un abattage total, ce qui engendre des coûts indirects importants.

D'autre part, les procédures d'abattage partiel n'aboutissent pas toujours puisque 9% des élevages ayant entamé une procédure d'abattage partiel ont finalement abattu l'intégralité de leur troupeau.

Enfin, l'évaluation de la mise en œuvre en Côte d'Or entre 2009 et 2013 de l'utilisation de l'interféron gamma en parallèle de l'intradermotuberculination a permis de montrer que la plus-value apportée par l'IFN semble faible (seulement 1 bovin sur 73 infectés n'aurait pas été détecté sans l'IFN), et que la moins-value réalisée par l'IFN semble également limitée (seulement 14 bovins).

### Mots-Clés :

Tuberculose bovine, abattage partiel, protocole en parallèle, interféron gamma, intradermotuberculinations.

## Résumé long

### Contexte

La tuberculose bovine est une maladie chronique, d'évolution lente, et qui engendre de fortes pertes économiques au niveau des élevages infectés, par ses conséquences directes (baisse de production, saisie des carcasses à l'abattoir) mais surtout par ses conséquences indirectes (blocage des exploitations). Son diagnostic précoce est primordial pour permettre la maîtrise de cette maladie.

La France, reconnue officiellement indemne de tuberculose depuis 2001 grâce à une incidence annuelle des foyers inférieure à 0,1%, met en place des abattages partiels expérimentaux dans des troupeaux infectés dans certains départements depuis 2009. Les animaux infectés sont abattus, et le reste du troupeau est soumis à une intradermotuberculination simple (IDS) et à un dosage de l'interféron gamma (IFN) associés « en parallèle », ce qui permettrait d'identifier de manière à la fois rapide et exhaustive tous les autres animaux infectés du troupeau. Ces deux tests de dépistage reposent sur le même principe biologique (la réaction allergique de l'hôte).

Cette étude présente une synthèse et une analyse des données obtenues lors de campagnes de prophylaxie et de données de police sanitaire recueillies entre 2009 et 2013 dans le département de la Côte d'Or. Une typologie des élevages suivant une procédure d'abattage partiel est réalisée, ainsi qu'une évaluation de la qualité du protocole diagnostique « en parallèle » de l'IDS et de l'IFN.

Il est à noter que la Côte d'Or présente une situation sanitaire particulière concernant les mycobactéries (*Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* et *M. caprae* étant les bactéries responsables de la tuberculose bovine) : beaucoup d'élevages sont infectés par des mycobactéries atypiques qui peuvent provoquer des réactions croisées aux tests allergiques utilisés en dépistage.

### Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée par l'unité EpiMAI (ENVA/Anses) dans le cadre d'une convention avec la DGAI et en partenariat avec la DDPP 21. La base de données Access utilisée par la Côte d'Or et contenant les résultats de prophylaxie, de police sanitaire, et de retours d'abattoir entre 2009 et 2013 était disponible. Des extractions SIGAL ponctuelles ont pu être réalisées en cas de besoin de données importantes à l'étude.

Le gold standard utilisé pour identifier les bovins tuberculeux était un résultat positif à la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et/ou un résultat positif en culture à *M. bovis*. Il a permis d'identifier 283 bovins tuberculeux. Seuls ceux pour lesquels des résultats analysables d'IFN et d'ID réalisés à moins de 15 jours d'intervalle et à moins de 6 mois de l'abattage du bovin en question ont été par la suite pris en compte pour l'analyse.

De par son contexte épidémiologique particulier (forte présence de mycobactéries atypiques), la Côte d'Or utilise en routine des intradermotuberculinations comparatives (IDC) au lieu des intradermotuberculinations simples (IDS). Elles sont en effet plus spécifiques. Afin d'obtenir un maximum de résultats en IDS, les IDC ont été lues comme des IDS en utilisant uniquement la mesure d'épaississement du pli de peau au site d'injection de la tuberculine bovine.

L'abattage du bovin et donc son identification comme tuberculeux (ou non) étant nécessairement conditionnels à un résultat positif à l'un des deux tests utilisés en parallèle, une évaluation directe de la sensibilité du protocole n'a pas pu être réalisée. Nous avons estimé la plus-value apportée par l'IFN sur l'ID : il s'agissait des bovins IFN+ et ID-.

## Résultats

Au total, 130 foyers ont été détectés entre 2009 et 2013 en Côte d'Or, ce qui correspond à 118 cheptels (certains cheptels ont été foyers plusieurs fois). Il y a eu 87 cas d'abattage partiel, 34 cas d'abattage total et 9 d'abattage partiel ont été passés en abattage total durant l'APDI.

A partir de la liste des cheptels ayant été placés sous APDI depuis 2002 inclus dans notre étude, entre 2009 et 2013, 16 cheptels ont fait l'objet d'un second APDI, huit cheptels d'un troisième, et un d'un quatrième APDI. La détection des foyers de tuberculose bovine s'est faite essentiellement grâce aux investigations réalisées suite à des résultats positifs ou douteux en IDC (64% et 26% respectivement). Seulement 7% ont été détectés à l'abattoir, 1,5% grâce aux contrôles d'achat et 1,5% par investigation d'un lien épidémiologique avec un foyer.

Le type d'abattage (partiel ou total), dans les cheptels infectés ne semblait pas dépendre du fait de se trouver ou non en zone rouge (*i.e.* zone de Côte d'Or historiquement infectée). Aucune différence de probabilité de subir un abattage total ou partiel selon le type d'activité des cheptels n'a été mise en évidence. Il n'a pas non plus été mis en évidence de différence entre la taille des troupeaux selon le type de procédure d'abattage suivi, par contre les cheptels foyers étaient d'une taille significativement plus élevée que les troupeaux indemnes de tuberculose.

La durée moyenne des APDI pour les cheptels en AP a été trouvée significativement plus importante que celle des cheptels en AP. En effet, elle était de 17,3 mois (abattage partiel) contre 11,2 mois (abattage total).

On a pu observer une faible proportion de bovins infectés par foyer : 76% des cheptels présentaient en supplément du ou des bovin ayant permis la reconnaissance de l'infection, moins de un bovin tuberculeux entre le début et la fin de son APDI. Le maximum de bovins tuberculeux détectés dans un même foyer entre le début et la fin de son APDI a été de 6 bovins (un seul élevage concerné).

Le nombre de bovins épargnés grâce à la mise en place de l'abattage partiel en Côte d'Or au cours de ces 4 années s'élève à 6402 bovins.

Bien que quatre éleveurs ayant un cheptel en procédure d'abattage partiel aient dû abattre plus de 100% de leur cheptel entre le début et la fin de leur APDI (du fait du rachat possible de bovins en fin de procédure d'assainissement), le pourcentage moyen de bovins du troupeau abattus était de 59%, ce qui reste relativement élevé.

Il est à noter que près de 9% des cheptels en abattage partiel ont terminé leur assainissement en abattage total par abandon de l'éleveur qui trouvait le protocole d'assainissement trop contraignant ou bien par décision de la DDPP.

Concernant l'évaluation de l'utilisation de l'interféron gamma (IFN) en parallèle de la réalisation d'une intradermotuberculination (ID), les plus-values de spécificité et moins-values de spécificité apportées par l'IFN sur le dépistage par une ID ont pu être quantifiées. La plus-value de sensibilité apportée par l'interféron sur l'IDS semble faible (1 bovin sur 73 détecté grâce à l'IFN seul), tout comme la moins-value (11 bovins faussement considérés comme tuberculeux à cause de l'IFN sur 893 bovins abattus).

En lisant les résultats d'ID telles qu'elles ont réellement été réalisées en Côte d'Or (choix raisonné du remplacement de certaines IDS par des IDC), on note une légère amélioration de l'apport de l'IFN dans le dépistage des bovins tuberculeux : 4 bovins sur 94 n'auraient pas été détectés sans l'IFN.

## Discussion

Les effectifs de bovins dont les résultats étaient analysables étant faibles, il est délicat de pouvoir émettre un avis définitif sur l'apport réel apporté par l'IFN dans le protocole d'assainissement des cheptels en abattage partiel. De plus, le contexte épidémiologique particulier de la Côte d'Or et l'utilisation raisonnée des IDC en remplacement de certaines IDS complique l'analyse du protocole.

Il serait intéressant de réaliser un bilan complémentaire à l'aide de plus de résultats de bovins tuberculeux, et sur une région de France ne présentant pas les mêmes problèmes de représentativité que la Côte d'Or.

De plus, l'approche fréquentiste utilisée dans cette étude est fortement limitée par les conséquences de gestion du protocole en parallèle (abattage conditionnel à un résultat non négatif à l'un des deux tests). L'évaluation du protocole à l'aide d'un modèle à classe latente pourrait apporter une réelle plus-value à cette analyse.

## **Conclusion**

Les procédures d'abattage partiel semblent à première vue permettre de ne pas abattre un nombre élevé de bovins et par là même de réaliser des économies directes importantes. Ceci reste à confirmer par une éventuelle analyse future.

La plus-value apportée par l'IFN sur l'ID semble par contre être faible dans le contexte actuel. Une étude sur une plus grande population permettrait de confirmer cette première observation. La modification du seuil de positivité de l'IFN pour améliorer la sensibilité du test dans le cadre de l'abattage partiel devrait sans doute également être explorée

## ABREVIATIONS

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
Ag : Antigène  
AP : Abattage Partiel  
APDI : Arrêté Préfectoral portant sur la Déclaration d'Infection  
APMS : Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance  
AP-AT : Cheptels ayant débuté par une procédure d'abattage partiel et s'étant terminée par un abattage total des bovins de l'exploitation  
AT : Abattage Total  
CFP10 : *Culture Filtrate Protein*, Protéine de 10kDa sécrétée en début d'infection de tuberculose bovine (peptide spécifique)  
DDcsPP21 : Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations de la Côte d'Or (21)  
DGAI : Direction Générale de l'Alimentation  
Div : Divergent  
EDE : numéro unique pour chaque cheptel attribué par l'Etablissement Départemental de l'Elevage  
ELISA : *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* ou test d'immunoabsorption par enzyme liée  
ESAT6 : Early Secreted Antigenic Target 6 (peptide spécifique)  
IDC : Intradermotuberculation Comparative  
IDS : Intradermotuberculation Simple  
IFN : Interféron Gamma  
M.atypique : Mycobactérie atypique  
*M.bovis* : *Mycobacterium bovis*  
PCR : polymerase chain reaction  
PPD : dérivé protéique purifié  
SIGAL : Système d'Information de la DGAI  
Se : Sensibilité  
Sp : Spécificité  
Tb : Tuberculose bovine

# Table des matières

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>10</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>11</b>
<b>I. CONTEXTE</b> .....	<b>12</b>
I.1 LA TUBERCULOSE BOVINE .....	12
I.1.1 <i>Définition, signes cliniques et conditions d'infection</i> .....	12
I.1.2 <i>Outils de dépistage et de diagnostic disponibles</i> .....	13
I.1.2.1 Tests utilisés en dépistage en élevage (ante-mortem) .....	13
I.1.2.2 Tests utilisés en diagnostic post-mortem .....	13
I.1.3 <i>Evolution de la prévalence en France et problématiques particulières à certains départements français</i> <sup>14</sup> .....	
I.1.4 <i>Evolution des mesures de lutte contre la tuberculose bovine en France</i> .....	16
I.2 ABATTAGE PARTIEL .....	16
I.2.1 <i>Contexte réglementaire de l'abattage partiel</i> .....	16
I.2.2 <i>Historique de l'AP et gestion des cheptels infectés</i> .....	17
I.2.3 <i>Avantages/inconvénients (AP vs AT)</i> .....	17
I.3 PROTOCOLE INTERFERON GAMMA ET IDS EN PARALLELE .....	18
I.3.1 <i>Le test interféron gamma</i> .....	19
I.3.2 <i>Principe du protocole en parallèle et intérêt</i> .....	20
I.3.3 <i>Utilisation de ce protocole dans d'autres pays européens</i> .....	20
I.4 QUESTION DE RECHERCHE ET OBJECTIFS DE CETTE ETUDE .....	21
<b>II. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>21</b>
II.1 DONNEES DISPONIBLES .....	21
II.2 APPROCHE METHODOLOGIQUE .....	22
II.2.1 <i>Tests utilisés et données exploitées</i> .....	22
II.2.2 <i>Evaluation de la qualité du protocole</i> .....	23
II.3 OUTILS STATISTIQUES ET INFORMATIQUES UTILISES .....	24
<b>III. RESULTATS</b> .....	<b>24</b>
III.1 TYPOLOGIE DES ELEVAGES INFECTES DE COTE D'OR, FREQUENCE DES DIFFERENTS TYPES D'ABATTAGE ET INDICATEURS DE PERTES ECONOMIQUES .....	24
III.1.1 <i>Effectifs</i> .....	24
III.1.2 <i>Réinfections</i> .....	25
III.1.3 <i>Origine et détection des foyers</i> .....	25
III.1.4 <i>Distinction zone « rouge »/zone « blanche »</i> .....	26
III.1.5 <i>Activité des élevages</i> .....	27
III.1.6 <i>Taille des élevages</i> .....	27
III.1.7 <i>Durée des APDI</i> .....	28
III.1.8 <i>Nombre de bovins trouvés infectés durant la phase d'assainissement</i> .....	29
III.1.9 <i>Nombre de bovins abattus durant la phase d'assainissement</i> .....	29
III.1.10 <i>Les échecs d'abattage partiel</i> .....	30
III.2 ESTIMATION DE LA SENSIBILITE DU PROTOCOLE EN PARALLELE .....	31
III.2.1 <i>Evaluation de la sensibilité individuelle des tests utilisés</i> .....	31
III.2.2 <i>Evaluation théorique du protocole en parallèle</i> .....	31
III.2.3 <i>Estimation théorique de la sensibilité du protocole en parallèle (sous hypothèse d'indépendance des tests)</i> .....	32
III.3 ESTIMATION DE LA SPECIFICITE DU PROTOCOLE EN PARALLELE .....	32

III.4	EVALUATION REELLE DU PROTOCOLE MIS EN PLACE EN COTE D'OR (IDS ET IDC // IFN) .....	33
<b>IV.</b>	<b>DISCUSSION</b> .....	<b>34</b>
IV.1	METHODES UTILISEES .....	34
IV.2	TYPLOGIE DES FOYERS ET AVANTAGES ECONOMIQUES PERMIS GRACE A L'AP .....	36
IV.3	EFFICACITE DU PROTOCOLE .....	36
	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>38</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>39</b>
	<b>ANNEXES</b> .....	<b>42</b>



## TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Evolution du pourcentage d'élevages infectés de tuberculose bovine en France de 1995 à 2012 (d'après Boschioli, 2012) .....	155
Figure 2 : Association de deux tests en parallèle .....	20
Figure 3 : Sensibilité du protocole en parallèle .....	2320
Figure 4 : Effectifs des abattages de troupeaux infectés de tuberculose bovine en Côte d'Or selon le protocole suivi, entre 2009 et 2013 .....	255
Figure 5 : Origine des détections des foyers .....	26
Figure 6 : Activité des élevages infectés de Côte d'Or selon le protocole d'assainissement.....	27
Figure 7 : Répartition des durées de l'APDI en mois pour les cheptels en AP et en AT.....	288
Figure 8 : Répartition du nombre de bovins PCR+ et/ou culture+ à <i>M.bovis</i> par troupeau durant la période d'APDI .....	29
Figure 9 : Répartition des cheptels en AP en fonction du pourcentage de bovin qui a été abattu entre le début et la fin de l'APDI.....	300

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux facteurs de risque d'infection par <i>M. bovis</i> à l'échelle d'un élevage .....	133
Tableau 2 : Avantages et inconvénients de l'AT et de l'AP.....	188
Tableau 3 : Récapitulatif de l'ensemble des données disponibles.....	211
Tableau 4 : Types d'assainissement pour les cheptels en réinfection .....	255
Tableau 5 : Pourcentage des foyers de tuberculose bovine du département 21 selon le zonage du département .....	266
Tableau 6 : Répartition des élevages foyers selon leur activité et le type de protocole d'assainissement comparé à la répartition des élevages selon leur activité en Côte d'Or.....	277
Tableau 7 : Nombre de bovins par exploitation dans les cheptels atteints de tuberculose bovine selon le type de protocole d'assainissement suivi.....	278
Tableau 8 : Informations détaillées sur la durée des APDI en mois.....	299
Tableau 9 : Résultats aux tests IFN et ID pour les bovins tuberculeux.....	31
Tableau 10 : Résultats aux tests IFN pour les bovins tuberculeux .....	31
Tableau 11 : Synthèse des résultats aux tests IDS et IFN pour les bovins tuberculeux entrés dans le protocole .....	332
Tableau 12 : Synthèse des résultats aux tests allergiques pour les bovins non tuberculeux ayant eu des analyses en parallèle.....	333
Tableau 13 : Synthèse des résultats aux tests allergiques tels qu'ils réellement réalisés en Côte d'Or pour les bovins tuberculeux ayant eu des analyses en parallèle .....	333

## TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Répartition des élevages présentant des résultats non négatifs durant les campagnes de prophylaxie, 2012 .....	43
Annexe 2 : Définitions réglementaires établies par l'article 12 de l'arrêté du 15/09/2003 révisé .....	44
Annexe 3 : Scénarios d'AT et d'AP .....	46
Annexe 4 : Principe du test de dosage de l'interféron gamma pour le dépistage de la tuberculose bovine et interprétation des résultats du test Bovigam® .....	47
Annexe 5 : Localisation des cantons appartenant à la « zone rouge » en Côte d'Or .....	49

## **Remerciements**

A Anne Praud et Barbara Dufour, mes deux maîtres de stage, pour leur aide durant ces 6 mois et leur disponibilité,

A Aurore Duvauchelle et Fabrice Chevalier (DDPP21) pour leur aide rapide et efficace sur les informations manquantes du département Côte d'Or,

A Loïc Desquilbet pour son aide précieuse sous SAS et Manon Chaîne pour son aide initiale à l'utilisation d'Access,

Et enfin à M.Toma, Julie et François d'Assise, pour leur bonne humeur et leur soutien dans les bureaux de l'unité EpiMai.

## Introduction

La tuberculose bovine est une maladie chronique des bovins due à *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), plus rarement à *Mycobacterium tuberculosis* (agent de la tuberculose humaine) ou *M. caprae*. Il s'agit d'une zoonose (OIE, 2005), et d'une maladie réglementée au plan français et européen depuis une cinquantaine d'années (CEE, 1964).

Son importance sanitaire et économique en fait une maladie animale pour laquelle des mesures d'éradication ont été mises en place dans les années 1950.

Dans le contexte épidémiologique français actuel, les signes cliniques chez les bovins sont généralement absents. L'excrétion pré-symptomatique, durable et irrégulière des agents infectieux rend nécessaire un **dépistage précoce**. Or, les tests bactériologiques, l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) et les analyses histologiques sont de ce point de vue insuffisants car ils sont réalisés *post-mortem* sur les bovins présentant des lésions évocatrices de tuberculose à l'abattoir, en tant que tests diagnostiques.

Les tests utilisés actuellement en dépistage durant les campagnes de prophylaxie reposent sur la mise en évidence d'une réaction allergique : soit par intradermotuberculation (ID), soit par dosage de l'interféron gamma (IFN) sur sang frais suite à stimulation des lymphocytes T mémoires.

Différents schémas de dépistage sont utilisés en prophylaxie en France, chacun étant adapté à la situation épidémiologique des départements où ils sont appliqués. En effet, la fréquence des campagnes de dépistage généralement réalisées par intradermotuberculinations peut varier d'un département à un autre, en fonction de la prévalence estimée, et les types de tests utilisés varient selon leurs possibilités de réalisation (IFN en Camargue pour les bovins de combat) et le contexte sanitaire du département (IDC en Côte d'Or en raison de la fréquence des Mycobactéries atypiques).

Lorsqu'un élevage est trouvé infecté, la réglementation française impose un assainissement par abattage total du troupeau. Cette gestion a lieu sur l'ensemble du territoire, excepté en Côte d'Or et en Dordogne où une dérogation permettant un abattage sélectif des seuls animaux réagissant (abattage partiel) peut être octroyée. Dans ce cas, il est impératif d'utiliser un schéma de détection ayant une sensibilité excellente afin d'éliminer tous les bovins infectés.

L'évaluation de ces schémas de détection permet d'adapter leur application et d'avoir des éléments scientifiques utiles aux prises de décisions réglementaires.

Cette étude s'inscrit dans l'évaluation du schéma de détection de la tuberculose bovine utilisé en Côte d'Or depuis 2009. Une présentation de la tuberculose bovine ainsi que des moyens de dépistage et de gestion actuellement utilisés en Côte d'Or sont présentés dans une première partie. Les matériels et méthodes de cette étude sont ensuite exposés dans une seconde partie, suivis de la présentation des résultats ainsi que d'une discussion sur les résultats obtenus et les méthodes utilisées.

# I. Contexte

## I.1 La tuberculose bovine

### I.1.1 Définition, signes cliniques et conditions d'infection

La tuberculose bovine est une maladie infectieuse causée par *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae* ou encore *Mycobacterium tuberculosis* (rare). Il s'agit d'une zoonose (OIE, 2005) dont l'importance au niveau mondial est considérable, notamment dans les pays où le SIDA y est endémique. A titre d'exemple, en Californie 35% des cas de tuberculose chez des patients co-infectés par le VIH étaient dus à *M. bovis* (Park *et al.*, 2010). En France, elle est inscrite dans la liste des dangers sanitaires de première catégorie.

#### Formes clinique et lésionnelle

Cliniquement, la tuberculose bovine est caractérisée par un grand polymorphisme et anatomiquement, par des lésions inflammatoires, les tubercules (Bénet, 2012).

L'expression clinique chez les bovins est très fruste, voire inexistante. Il faut des mois voire des années pour que les symptômes apparaissent : amaigrissement, toux, adénopathies, fièvre intermittente et baisse de production. La durée nécessaire à l'expression clinique des symptômes rend ces signes cliniques quasi-inobservables en France étant donné l'abattage systématique des bovins détectés tuberculeux durant les campagnes de prophylaxie ou les contrôles d'achat.

Les lésions peuvent être circonscrites (tubercules) ou diffuses (infiltrations et épanchements). Le follicule tuberculeux, qui correspond à la lésion microscopique la plus représentative, est constitué d'un centre nécrotique homogène (caséum), d'une première couronne de cellules (histiocytes, macrophages) et d'une seconde couronne purement lymphocytaire. L'évolution de cette lésion peut se réaliser dans le sens d'une calcification du caséum, avec fibrose périphérique (Bénet *et al.*, 2012).

#### Les voies de contamination

Les voies de contamination sont essentiellement respiratoires (par inhalation de gouttelettes émises lors de la toux ou d'aérosols contaminés – muflé à muflé) et digestives (matières contaminées : lait, eau d'abreuvement, fourrage, pierres à lécher, *etc.*) (DGAI, 2012).

#### Progression du pathogène dans l'organisme

Après pénétration dans l'organisme, les mycobactéries, phagocytées par les macrophages, résistent pour partie à la lyse et se multiplient dans les cellules qui les ont phagocytées (Boschioli, 2008). Cette multiplication locale conduit en 8 à 15 jours à la formation d'un chancre d'inoculation au niveau de la porte d'entrée du pathogène, suivie rapidement d'une adénopathie locorégionale. S'en suit une stabilisation avec éventuelle disparition de la lésion parenchymateuse, puis une généralisation soit aiguë précoce (tuberculose miliaire aiguë dont la mort arrive rapidement), soit précoce progressive (stabilisation possible), soit une tuberculose dite de surinfection avec extension de proche en proche, beaucoup plus lente.

#### Contamination à l'échelle du troupeau

De manière générale, la contamination d'un troupeau résulte de l'un et/ou l'autre des trois mécanismes suivants (Bénet, 2008) :

- introduction d'un animal infecté,
- voisinage infecté,
- résurgence.

Les facteurs de risque principaux d'infection pour un élevage sont résumés dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Principaux facteurs de risque d'infection par *M. bovis* à l'échelle d'un élevage**

<b>Type d'élevage</b>	<b>Allaitant :</b> 1) introduction du taureau reproducteur 2) durée de vie plus longue des animaux 3) Pâtures plus longues (voisinage, contact faune sauvage) <b>Laitier :</b> risque d'introduction par fort taux de renouvellement des animaux
<b>Taille du cheptel élevée</b>	1) Risque élevé d'interaction avec un animal infecté jouant le rôle de réservoir* 2) Parcelles souvent plus grandes 3) Surveillance par l'éleveur réduite
<b>Conduite de l'élevage</b>	1) Confinement, stabulation prolongée, non aération des locaux** 2) Epandage du fumier contaminé sur les aires de pâturage (survie très longue des mycobactéries dans ce type d'environnement)

\*Brooks-Pollock *et* Keeling, 2009

\*\* Goodchild A.V. *et* Clifton-Hadley R.S., 2001

## **I.1.2 Outils de dépistage et de diagnostic disponibles**

### **I.1.2.1 Tests utilisés en dépistage en élevage (ante-mortem)**

#### **Mécanismes immunitaires**

L'infection par *M. bovis* provoque chez l'animal infecté une réponse immunitaire de type Th1, permettant une lutte active contre les pathogènes intracellulaires. Elle est caractérisée par la production d'un médiateur de l'immunité, l'interféron gamma (IFN).

L'IFN peut être libéré *in vitro* en quantité suffisante pour être mesuré par une méthode ELISA en « sandwich » (Wood *et* Jones, 2001).

L'hypersensibilité retardée (hypersensibilité de type IV) provoquée par la tuberculose bovine est facilement observable par injection de tuberculine (protéines extraites de surnageant de cultures de Mycobactéries et purifiées) par voie intradermique. Il s'agit d'une réaction d'infiltration cellulaire dont la forme clinique la plus classique est un nodule avec une infiltration épidermique se manifestant par un érythème avec œdème et prurit (Strain *et al.*, 2011). C'est une réaction spécifique tardive, progressive et durable.

La production d'anticorps quant à elle, semble être plus tardive que l'hypersensibilité retardée et être le témoin d'une tuberculose active. Elle présente des fluctuations plus ou moins importantes rendant très peu sensible le diagnostic sérologique (qui manque par ailleurs également de spécificité) (Strain *et al.*, 2011).

### **I.1.2.2 Tests utilisés en diagnostic post-mortem**

Les autres outils diagnostiques utilisés sont la surveillance systématique des lésions en abattoir, la réalisation de PCR et analyses histologiques sur lésions suspectes et la mise en culture des bacilles.

#### **L'inspection post mortem**

La surveillance systématique des lésions tuberculeuses en abattoir repose sur une observation attentive des nœuds lymphatiques bronchiques, trachéobronchiques, rétropharyngiens et médiastinaux.

### **L'examen histopathologique**

L'examen histopathologique consiste en une analyse microscopique de coupes de tissus provenant de lésions macroscopiques douteuses. Il s'agit d'un test diagnostique de la tuberculose bovine assez rapide (résultats obtenus généralement sous 8 jours), ayant une sensibilité autour de 93,6% [89,9 ; 96,9] (intervalle de confiance à 95% - IC95%), et une spécificité moins bonne, autour de 83,3% [78,7 ; 87,6] (IC95%) (Courcoul *et al.*, 2014).

### **La culture bactérienne**

La culture est la méthode de référence, le « Gold standard », pour diagnostiquer la maladie. Elle consiste à cultiver sur milieux spécifiques les bactéries potentiellement présentes dans les lésions tuberculeuses, et à identifier la souche bactérienne. Sa sensibilité a été évaluée à 78,1% [72,9 ; 82,8] (IC95%) et sa spécificité est donnée à 99,1% [97,1 ; 100,0] (IC95%) selon le modèle de Courcoul *et al.*, 2014. Cependant cette spécificité calculée peut être remise en question vu la nature intrinsèque du test : un isolement de l'agent pathogène devrait donner une spécificité systématique de 100%.

Elle permet de réaliser un typage moléculaire par la suite (spoligotypage).

Cependant, ce diagnostic est relativement long : que ce soit après découverte d'une lésion suspecte à l'abattoir, ou après un abattage diagnostique, il faut plusieurs semaines (en moyenne 4 semaines) pour obtenir un résultat positif, et 3 mois pour un résultat négatif (Cardoso *et al.*, 2007). Ces délais sont très préjudiciables aux intérêts économiques des éleveurs, dont les exploitations sont bloquées pendant ce temps (Bénet et Dufour, 2014).

Le typage moléculaire de *M. bovis* s'avère très utile dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques. Il permet de distinguer entre eux des isolats de *M. bovis* d'origine différentes et ainsi de préciser les sources probables d'infection (Durand *et al.*, 2004).

### **La PCR (Polymerase Chain Reaction)**

La technique PCR est une méthode d'amplification *in vitro* de l'ADN permettant la détection des bactéries à partir d'un échantillon biologique. La sensibilité moyenne du test est de 87,7% [82,5 ; 92,3%] (IC95%) et sa spécificité, excellente, est aux alentours de 97,0% [94,3 ; 99,0] (IC95%) (Courcoul *et al.*, 2014).

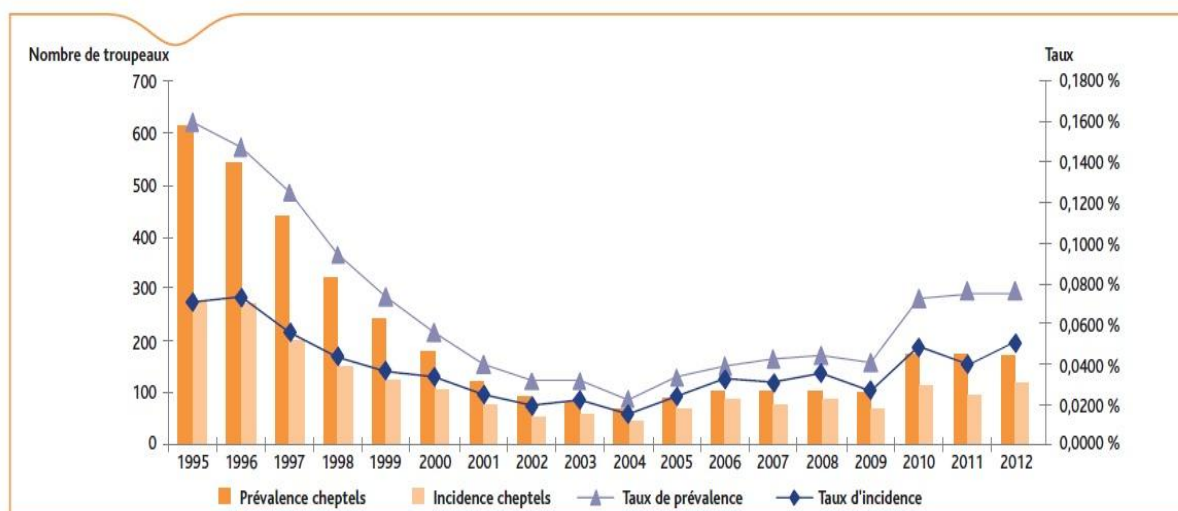
En plus de ces bonnes qualités de test, la PCR donne un résultat en une huitaine de jours, ce qui raccourcit le délai du diagnostic de façon à le rendre compatible avec les attentes des acteurs de terrain (Bénet et Dufour, 2014).

## **I.1.3 Evolution de la prévalence en France et problématiques particulières à certains départements français**

La tuberculose bovine était très présente en France au milieu du XX<sup>ème</sup> siècle. Au cours du demi-siècle passé, sa prévalence a connu une diminution régulière et importante. Cette diminution a permis de classer la France dans la liste des pays officiellement indemnes de tuberculose bovine en 2001 (CEE, 2001).

Cependant, sa persistance dans certains départements français ainsi que des taux d'incidences en augmentation ces dernières années, visibles sur la figure 1, la replacent comme préoccupation sanitaire importante en France (Dirat, 2013).

Figure 1 : Evolution du pourcentage d'élevages infectés de tuberculose bovine en France de 1995 à 2012 (d'après Fediaevsky *et al.*, 2013)



En 2013, seuls 15 états membres de l'Union Européenne possédaient le statut « officiellement indemne de tuberculose » d'après la décision 2003/467/CE du 23 juin 2003 modifiée le 31 juillet 2012.

Aujourd'hui les départements français sont soumis (ou non) à un dépistage de la tuberculose bovine, selon la prévalence et l'incidence des foyers de tuberculose bovine qui y ont été constatés au cours des années précédentes. Le rythme de la prophylaxie peut ainsi être annuel, biennal, triennal, ou plus. Le dépistage est réalisé essentiellement par IDS, et plus rarement par IDC (Anses, 2012), en particulier dans les départements dans lesquels la présence fréquente de mycobactéries atypiques est constatée.

Certains départements français rencontrent des difficultés en zones d'infection résiduelle (Fediaevsky *et al.*, 2013). La répartition des élevages présentant des résultats non négatifs durant les campagnes de prophylaxie est présentée dans l'annexe 1.

C'est le cas notamment en Côte d'Or, où le dépistage de la tuberculose bovine est rendu délicat par la présence de Mycobactéries atypiques, par la taille importante des troupeaux, les longues périodes passées en pâturages réduisant la fréquence des contrôles, par le type de production allaitant, conduisant à une surveillance moins intense des animaux, les contacts avec la faune sauvage et les bovins des exploitations voisines plus faciles, et par une réforme généralement tardive des animaux.

Par ailleurs, de nombreuses réactions d'ID non négatives sont observées au cours des opérations de dépistage de la tuberculose dans ces zones. Près de 60% des troupeaux indemnes soumis au dépistage en Côte d'Or en 2009-2010 et 2010-2011 ont présenté des réactions non spécifiques à la tuberculine bovine de l'IDC alors que le taux d'infection des cheptels reconnu dans le département est d'environ 1% (Anses, 2012).

En Dordogne, où la polyculture non spécialisée est fréquente, on observe une diminution de la motivation des acteurs de terrain de par la persistance de la tuberculose malgré les mesures de lutte par dépistages à l'aide d'IDS.

En Camargue, les bovins de combat doivent être laissés à l'état semi-sauvage, d'où des difficultés de réalisation de l'ID qui requiert deux contentions successives à J0 et J3, pour l'injection de la tuberculine puis pour la lecture du résultat.

## **I.1.4 Evolution des mesures de lutte contre la tuberculose bovine en France**

Le début de la réglementation de la tuberculose bovine en France date de 1955. Initialement, la gestion de cette maladie était collective et volontaire.

La lutte contre la tuberculose bovine a ensuite été rendue obligatoire dans les zones où plus de 60% des propriétaires d'animaux y adhéraient (Décret, 1963). Dans ces zones à partir de 1963, les bovins réagissant positivement à la tuberculine devaient systématiquement être abattus.

La lutte fut ensuite rendue obligatoire sur l'ensemble du territoire national en 1965.

Actuellement, les mesures de lutte (techniques et administratives) relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et des caprins sont définies par l'AM du 15 septembre 2003, dont la dernière modification date du 4 janvier 2011.

La réglementation sanitaire définit quatre statuts possibles pour un troupeau : indemne, suspect, infecté, susceptible (définis dans l'annexe 2), suivant l'état infecté ou non des bovins de l'exploitation ainsi que du contexte épidémiologique.

La prophylaxie de la tuberculose bovine repose aujourd'hui sur :

- le dépistage des cheptels infectés et leur assainissement ;
- le contrôle des cheptels indemnes et leur qualification.

Les troupeaux suspects et susceptibles sont placés sous Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance (APMS). Le ou les bovins ayant réagi non négativement à l'ID doit(/vent) subir un abattage diagnostique.

En cas de confirmation de l'infection (par culture par exemple), le troupeau est reconnu infecté et placé sous Arrêté Préfectoral portant Déclaration d'Infection (APDI), ce qui donne lieu en principe à un abattage total depuis 1999 (sauf dérogation possible dans le cas de races d'intérêt local).

La recrudescence du nombre de foyers de tuberculose bovine depuis 2004 et le faible nombre d'animaux chez lesquels l'infection est réellement mise en évidence (un seul bovin atteint par élevage pour environ 43% des élevages et 1 à 3 bovins atteint pour environ 75% des élevages (enquête nationale 2005-2007, DGAI)) a remis en question l'abattage total. Pour des enjeux de préservation de races locales, comme en Camargue, ou dans des départements présentant un nombre élevé de cas à gérer dont des résurgences anormalement fréquentes, comme en Côte-d'Or, l'abattage partiel (historiquement utilisé avant 1999) a été ré-envisagé (Arrêté du 4 septembre 2008).

## **I.2 Abattage partiel**

### **I.2.1 Contexte réglementaire de l'abattage partiel**

Dans le cas où un abattage total peut être évité (nombre important de bovins réagissant aux tests allergiques, forte implication de l'éleveur, conditions épidémiologiques satisfaisantes), seuls les bovins répondant positivement au test d'intradermotuberculation doivent être abattus, et ce, dans un délai maximal de 30 jours. Un contrôle tuberculique des bovinés restant dans le troupeau est réalisé dans un délai de six semaines au moins et deux mois au plus suivant le contrôle précédent. Les contrôles se poursuivent alors à un rythme compris entre six semaines et deux mois, jusqu'à obtention d'un contrôle négatif de l'ensemble des bovinés restants.

Après ce premier contrôle favorable et achèvement des opérations de désinfection adéquates, le troupeau est dit « assaini » et l'APDI est levé ; deux contrôles exhaustifs de tous les bovinés de plus de six semaines par intradermotuberculation, pratiqués à intervalle compris entre six mois au moins et un an au plus, sont alors nécessaires pour que le troupeau recouvre la qualification « officiellement indemne » (OI).



L'annexe 3 synthétise les différences entre les étapes en abattage partiel et en abattage total.

### **I.2.2 Historique de l'AP et gestion des cheptels infectés**

Historiquement, lorsqu'un cheptel était déclaré infecté, tous les bovins devaient être testés avec une tuberculine forte, la tuberculine concentrée à chaud sur milieu synthétique (C.C.M.S), plus sensible que la tuberculine utilisée actuellement, les dérivés protéiques purifiés (P.P.D.), ce qui permettait d'identifier et d'abattre un maximum d'animaux tuberculeux. Les bovins trouvés tuberculeux étaient marqués d'un « T » à l'oreille droite (Article 5 du décret du 19 mars 1963) et devaient être abattus dans les 8 jours suivant le résultat positif du test. Les bovins non tuberculeux (mais appartenant à un cheptel reconnu infecté) ne pouvaient pas quitter l'exploitation à moins d'être destinés à l'abattoir ou à l'équarrissage (arrêté du 14 avril 1990).

L'arrêt de la commercialisation de la tuberculine forte C.C.M.S. en 1986 par l'Institut Pasteur a compliqué la gestion des cheptels reconnus infectés.

Malgré les mesures de lutte mises en place, les autorités sanitaires constataient de nombreux cas de résurgences dans les troupeaux assainis. De plus, le nombre de bovins à abattre était souvent élevé et le temps de blocage de l'exploitation (correspondant à la durée d'assainissement et de requalification) était long. Les éleveurs détenant un cheptel infecté, jusqu'alors libres de réaliser un abattage des seuls bovins trouvés tuberculeux (abattage partiel) ou bien de tous les bovins du cheptel (abattage total), se sont vus contraints de réaliser de façon systématique un abattage total en 1999 (article 6 de l'arrêté du 4 mai 1999).

Comme expliqué précédemment, la prévalence en France ayant nettement diminué depuis, et le nombre moyen d'animaux par cheptel allant toujours en augmentant, le nombre de bovins confirmés tuberculeux à l'abattoir est devenu très faible (Bénéat et Dufour, 2014). Etant donné les impacts économiques et psychologiques de l'abattage total, ce dernier a été remis en question. Depuis 2009, des dérogations sont possibles, sur demande de l'éleveur, dans les cheptels de certains départements uniquement et sur autorisation de la DGAI (DGAL, 2008). Dans ces cheptels cependant, la transition vers un assainissement par abattage total peut être décidée par le DDPP, à tout moment du protocole d'assainissement, en fonction de l'évolution de la situation sanitaire du troupeau ou de non-respect du protocole d'abatage partiel.

### **I.2.3 Avantages/inconvénients (AP vs AT)**

Le principe des abattages partiels consiste à identifier et éliminer les seuls animaux infectés. Il convient donc de tester tous les bovins de l'exploitation déclarée infectée. Ceux dont les résultats sont non négatifs sont abattus, et des examens complémentaires sont réalisés sur leurs carcasses (PCR, histologie, coloration, culture).

Bien que l'abattage partiel paraisse séduisant de prime abord, parce qu'il permet de n'abattre qu'un nombre restreint d'animaux, il présente des inconvénients non négligeables. En effet, les contrôles d'assainissement en abattage partiel sont très contraignants, puisqu'il faut répéter les tests IFN et ID autant de fois que nécessaire pour assainir les troupeaux, ce qui peut bloquer longtemps l'élevage concerné. De plus, l'inspection sanitaire à l'abattoir nécessite une analyse PCR systématique sur 3 pools d'échantillons de ganglions dans le cas de carcasses provenant de cheptels en abattage partiel, alors que pour celles provenant d'un cheptel en abattage total, une simple inspection visuelle suffit.

Selon un calcul basé sur l'indemnisation des animaux abattus, le coût des analyses IFN et PCR et l'aide au repeuplement versée, il a été estimé que sur les années 2009 et 2010, les frais de gestion

par animal abattu en Côte d'Or était de 1706,49€ pour un bovin provenant d'un cheptel en abattage total contre 1843,92€ pour un bovin provenant d'un cheptel en abattage partiel, ce qui aurait permis de faire une économie de 3,5 millions d'euros en 2010. Il est à noter que dans ce calcul les frais de police sanitaire ainsi que les frais administratifs n'ont pas été inclus (Cavalerie, 2012).

Le choix de l'abattage total ou de l'abattage partiel dépend donc de plusieurs critères. Tout d'abord (et en priorité) si le risque sanitaire est considéré comme trop important, l'abattage total sera décidé par la DDPP (par exemple si le nombre d'animaux positifs est très élevé, si l'abattage partiel dure trop longtemps, si l'éleveur ne peut garantir l'isolement des animaux douteux par des doubles clôtures ou s'il ne peut techniquement procéder à des contrôles réguliers sur ses animaux). La motivation de l'éleveur est également un critère de décision du type d'abattage à suivre (Cavalerie, 2012).

Enfin, il est à noter que les abattages partiels sont exclus dans le cas d'activités d'engraissement pour lesquels une fermeture pendant plus d'un an est dépourvue de sens.

Les principaux avantages et inconvénients de ces deux approches d'assainissement des foyers de tuberculose sont résumés dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Avantages et inconvénients de l'abattage total et de l'abattage partiel**

	<b>Abattage Total</b>	<b>Abattage Partiel</b>
<b>Avantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapide</li> <li>• Rassurant sur le plan épidémiologique (limite en principe les résurgences)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Préservation de certaines races locales</li> <li>• Préservation du potentiel génétique sélectionné</li> <li>• Coût moindre si peu de bovins infectés et requalification rapide (sinon : peut être plus coûteux que l'abattage total)</li> </ul>
<b>Inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Impact psychologique traumatisant</li> <li>• Coût direct élevé (surtout lorsque peu de bovins infectés et que les troupeaux sont de taille élevée)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procédures longues (mesures sanitaires de suivi lourdes)</li> <li>• Risque de résurgence +++</li> <li>• Investissement humain lourd (nombreuses itérations de tests sur les bovins non abattus)</li> <li>• Blocage de l'exploitation très long</li> </ul>

### **I.3 Protocole Interféron gamma et IDS en parallèle**

Le retour à un abattage partiel (sous certaines conditions) impose d'appliquer un protocole de détection ayant une très bonne sensibilité, afin de détecter le plus grand nombre possible de bovins tuberculeux. Jusqu'en 1986, l'utilisation de la tuberculine forte (garantissant à l'ID une sensibilité excellente) permettait d'assurer une bonne détection des bovins infectés (mais avec une spécificité faible). Cependant l'Institut Pasteur a dû arrêter sa commercialisation en 1986.

C'est pourquoi un protocole de dépistage en parallèle associant l'IDS et le dosage de l'IFN dans les cheptels infectés en abattage partiel est actuellement appliqué. Ce type d'utilisation des tests (en parallèle) permet d'augmenter la sensibilité du protocole de détection de la maladie.

### I.3.1 Le test interféron gamma

Le test IFN a été développé en Australie durant les années 80 (Wood and Jones, 2001) et est recommandé par l'OIE depuis 1996 comme test complémentaire des intradermotuberculinations. Il est reconnu au niveau européen depuis 2002 pour une utilisation comme test « auxiliaire ». Il est pour l'instant interdit par la réglementation européenne lorsqu'il est utilisé en tant que seul test de dépistage de la tuberculose bovine (CE, 2009).

La réglementation française autorise son usage depuis 2009 (AM, 2009) à l'aide du kit Bovigam® mais il n'est actuellement utilisé que dans certains départements tels que la Côte-d'Or (21), la Dordogne (24), les Bouches-du-Rhône (13), l'Hérault (34) et le Vaucluse (84).

L'IFN est un test réalisé *in vitro* reposant sur la détection d'IFN produit après une phase de stimulation des cellules sanguines par des antigènes tels que la tuberculine bovine. Le test se réalise en deux étapes (annexe 4) : tout d'abord les prélèvements sanguins doivent être transportés au laboratoire dans les 8 à 24h (selon les auteurs) suivant la prise de sang, et cultivés à 37°C en présence de tuberculine bovine ou aviaire (PPD-B ou PPD-A respectivement) pendant 20 à 24h. Pour être valable, ce test doit être mis en œuvre sur des prélèvements sanguins pour lesquels les lymphocytes sont encore viables et capables de réagir : les conditions de conservation du prélèvement sont donc primordiales. Après ce temps d'incubation, le surnageant est collecté et la quantité d'IFN produite est objectivée par ELISA. Les résultats sont lus par mesure de la densité optique (spectrophotométrie). Le test est considéré positif lorsque la quantité d'IFN produite est plus importante après stimulation par la tuberculine bovine que par la tuberculine aviaire (Vordermeier *et al.*, 2006).

D'après la synthèse de Strain *et al.* (2011), la sensibilité médiane du test IFN est de 87,6% [73,0 ; 100,0] (IC95%), et la spécificité médiane est de 96,6% [85,0 ; 99,6] (IC95%). Cependant, l'existence de variations dans les seuils de positivité, les différents lots d'antigènes utilisables, les différences de gold standard utilisés pour déterminer le statut infectieux des animaux dans les différentes études ainsi que les différences de contexte épidémiologique donnent lieu à de grandes variations de sensibilité et spécificité du test IFN. A titre d'exemple, une étude réalisée entre 2009 et 2012 en France a montré que le test de dosage de l'interféron gamma utilisant à la fois le kit Bovigam® et des antigènes spécifiques (ESAT-6 et CFP-10) avait une sensibilité moyenne de 88,1% [72,8% ; 97,5%]<sub>IC95%</sub> et une spécificité moyenne de 62,3% [60,2% ; 64,5%]<sub>IC95%</sub> (ANSES, 2012).

Le dosage de l'interféron gamma permettrait de détecter une importante proportion d'animaux infectés non détectés par intradermotuberculination. Ceci est dû au fait que l'IFN détecte plus précocement les animaux nouvellement infectés (dès 1 à 4 semaines post-infection) (Pollock *et al.*, 2005).

Comme tous les tests quantitatifs, l'IFN offre une flexibilité dans son interprétation grâce à l'utilisation de seuils de positivité adaptés.

Sa réalisation sur le terrain est bien plus simple que celle des ID : une unique prise de sang suffit, ce qui est un avantage majeur dans les élevages allaitants ou de bovins de combat (Côte d'Or et Camargue respectivement) car cela limite fortement les problèmes de contention. Sa réalisation ne nécessite qu'un seul passage du vétérinaire dans l'exploitation, contrairement aux ID qui imposent deux passages pour réaliser l'injection puis la lecture (effectuées dans l'idéal par la même personne). Le test IFN a d'ailleurs permis de « remotiver » les acteurs de terrain par sa facilité de réalisation (notamment en Camargue où les ID étaient très difficilement réalisables et dangereuses pour les personnes réalisant les injections, la lecture et la contention).

De plus, le test IFN n'interfère pas avec le statut immunitaire de l'hôte. Ainsi, il peut être réalisé autant de fois que nécessaire et sans intervalle de temps minimal entre deux tests.

Enfin, tout comme l'IDC, l'IFN permet de distinguer avec une certaine spécificité la réponse immunitaire à *M. bovis* de celle à *M. avium*.

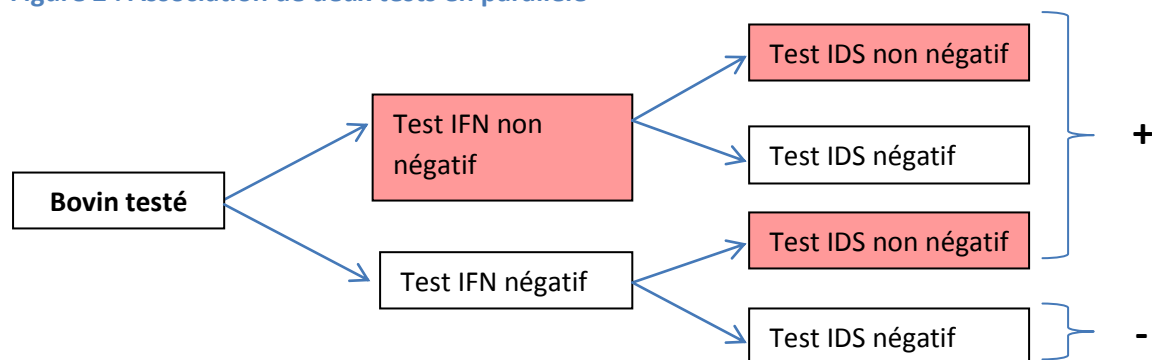
Cependant l'IFN est beaucoup plus coûteux que l'ID : 40-60€ par animal *versus* 2 à 8€. Il est aussi plus contraignant techniquement : l'acheminement de la prise de sang jusqu'au laboratoire doit être réalisé sous 8h, ce qui peut poser des problèmes lorsque les exploitations sont éloignées de celui-ci. De plus, la quantité d'IFN produite par les cellules de l'immunité est variable selon les races de bovins, ce qui peut engendrer des erreurs diagnostiques.

### 1.3.2 Principe du protocole en parallèle et intérêt

Le protocole diagnostique utilisant l'ID et le dosage de l'IFN en parallèle est autorisé au niveau européen dans un objectif de renforcement de la sensibilité du dépistage (Directive CE 64/432) et utilisé en France dans le cas d'assainissement des foyers par abattage partiel.

Le principe du protocole est le suivant : Les animaux sont tous soumis au même moment au test IFN et à l'ID. L'animal est considéré comme ayant fourni un résultat positif au dépistage si l'un des deux tests (/ou les deux) fournit(/ssent) une réponse positive, comme l'indique la figure 2.

Figure 2 : Association de deux tests en parallèle



Les animaux réagissant sont éliminés par abattage diagnostique.

### 1.3.3 Utilisation de ce protocole dans d'autres pays européens

D'autres pays que la France utilisent le test IFN en parallèle d'une ID, parmi lesquels l'Irlande du Nord, la Grande-Bretagne, la République d'Irlande, la Nouvelle Zélande, l'Espagne et l'Italie.

Il est essentiellement mis en œuvre dans les cheptels où la prévalence de l'infection est supposée élevée. Tous les bovins présentant un résultat positif au test sont alors abattus.

La plupart des pays utilisent un seuil de densité optique fixé à 0,1 pour la lecture du test IFN, cependant l'Irlande du Nord et la République d'Irlande ont un seuil fixé à 0,05 ce qui permet d'augmenter la sensibilité du test mais en réduit sa spécificité (Strain, McNair, McDowell, 2012).

En Grande Bretagne, le test IFN a commencé à être utilisé comme test officiel de contrôle de la tuberculose bovine en 2002 (Vordermeier *et al.*, 2006). Seuls les bovins de plus de 6 mois sont testés. Il est également utilisé en série avec l'IDS dans le cas de régions où de nombreuses réactions non spécifiques à l'intradermotuberculination sont observées.

En Irlande le test IFN est utilisé depuis 2005 (Anon, 2005). Il est réalisé en parallèle de l'IDS dans les

cheptels ayant présenté plus de deux bovins à résultats positifs en ID. La prise de sang pour son dosage doit être réalisée au minimum 60 jours après la première série d'intradermotuberculation.

En Nouvelle-Zélande, l'IFN peut être utilisé en parallèle ou en série d'une ID.

L'utilisation en parallèle se fait pour autorisation ou non de mouvement de bovins depuis des cheptels ayant un historique d'infection. Les bovins dont le résultat d'IFN est supérieur à 0,04 en DO n'ont pas de droit de déplacement. Entre 0,04 et 0,07 ils sont considérés à risque moyen et au-delà de 0,07 ils sont considérés à haut risque.

En Espagne, le test IFN est utilisé en parallèle à l'ID sur les bovins de plus de 6 mois, dans les régions où on présume une forte incidence troupeau de tuberculose (supérieure à 1%) (Anon, 2008). Tous les bovins ayant un résultat positif en IFN sont abattus.

En Italie, dans les régions de la vallée d'Aoste et de la Lombardie notamment, l'IFN est utilisé en parallèle dans des cheptels où la présence de *M. bovis* a été mise en évidence. Le seuil de DO est fixé à 0,1.

#### I.4 Question de recherche et objectifs de cette étude

Cette étude s'inscrit dans une démarche d'évaluation de la mise en place du protocole associant l'IFN et l'IDS en parallèle dans les cheptels foyers en abattage partiel.

Une typologie des élevages infectés a été réalisée, avec la distinction de ceux ayant suivi une procédure d'abattage total de ceux ayant suivi une procédure d'abattage partiel.

Une évaluation de l'efficacité du protocole a également été réalisée.

## II. Matériel et méthodes

### II.1 Données disponibles

Cette étude a été réalisée par l'unité EpiMAI (ENVA/Anses) dans le cadre d'une convention avec la DGAI et en partenariat avec la DDPP 21.

La base de données Access utilisée par la Côte d'Or et contenant les résultats de prophylaxie, de police sanitaire, et de retours d'abattoir entre 2009 et 2013 était disponible. Cette base de données, initialement élaborée pour permettre le suivi administratif des élevages de Côte d'Or n'était par conséquent pas adaptée à une exploitation épidémiologique. Elle contenait notamment beaucoup de doublons et un grand nombre d'informations manquantes ou mal renseignées, en particulier concernant les dates et les résultats chiffrés d'analyse.

Cette base regroupait 40 tables, synthétisées dans le tableau 3.

**Tableau 3 : Récapitulatif de l'ensemble des données disponibles**

Type d'informations	Détail	Nombre de tables contenant ces informations
Données administratives	Adresse, téléphone, nom du vétérinaire, numéro d'enregistrement des abattoirs, élevages, négociants.	4
Données financières	RIB, type de véhicule, tarification des actes, nombre d'analyses effectuées	6
Qualification sanitaire	Concernant la brucellose, la leucose, la tuberculose, la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) et le varron. Type	4

Type d'informations	Détail	Nombre de tables
	de prélèvements effectués, nombre de bovins testés, date de leur réalisation, nombre à faire en recontrôle (concernant la tuberculose bovine, l'IBR et la brucellose bovine).	
<b>Cheptels foyers</b>	N°EDE, numéro et date d'APDI, informations générales sur l'élevage. Notes diverses concernant les problèmes de gestion de chaque foyer, l'état d'assainissement et dates de contrôles prévisionnels.	4
<b>Liens épidémiologiques et cheptels à risque</b>	Mélange involontaire d'animaux, pâturage mitoyen, achat de bovins, ancien foyer. Lien épidémiologique avec un foyer avéré, résurgence en cas de foyer antérieur, anomalies administratives récurrentes	4
<b>Zone à risque</b>	Cantons et communes en « zone rouge ».	1
<b>Informations bovins</b>	Date de naissance, sexe, race, géniteurs, date éventuelle de décès.	2
<b>Résultats d'ID et d'IFN</b>	Nombre de bovins testés, de résultats positifs, douteux ou négatifs (pas systématiquement renseigné).	4
<b>Analyses <i>post-mortem</i></b>	Résultats d'abattoir, d'histologie, de PCR, de culture bactérienne.	1
<b>Liste de choix</b>	Tables servant de liste de choix pour renseigner deux des tables pré-citées.	2
<b>Non exploitables</b>	Tables sur divers sujets non exploitables car non ou mal renseignées.	8

Seules les tables contenant les résultats de tests d'intradermotuberculination (IDS et IDC), de dosage de l'interféron et d'analyse *post-mortem* (notamment PCR et culture) ont été utilisées. Afin de compléter ces données (informations manquantes dans la base), des extractions SIGAL ponctuelles ont été réalisées par les membres de la DDPP21.

La plupart des résultats d'IFN étaient exprimés sous forme qualitative, alors que la majorité des résultats d'ID étaient exprimée sous forme quantitative.

## II.2 Approche méthodologique

### II.2.1 Tests utilisés et données exploitées

La base de données comportait 22 225 enregistrements de résultats d'intradermotuberculinations réalisées entre janvier 2009 et décembre 2013 (doublons et enregistrements incomplets compris), 62 833 enregistrements de résultats d'IFN entre novembre 2009 et décembre 2013 (doublons et enregistrements incomplets compris), et 21 782 retours d'abattoir entre novembre 2009 et décembre 2013.

Parmi ces informations, nous n'avons utilisé que les résultats d'IDS réalisées en parallèle avec l'IFN. Ces résultats étaient ceux des tests effectués dans les élevages foyers soumis à un protocole d'abattage partiel. Après le nettoyage de la base, 2784 enregistrements de résultats d'IFN et d'ID en parallèle étaient disponibles.

En théorie, tous les bovins des cheptels en abattage partiel devaient subir un IFN et une IDS. Cependant, compte tenu de la problématique particulière de la Côte d'Or (fréquence des réactions

croisées dues à la présence de mycobactéries atypiques), l'IDC était utilisée dans certains cheptels à la place de l'IDS (avec l'accord de la DDPP) lorsqu'un grand nombre de résultats faussement positifs en IDS y avaient été observés.

Dans les élevages éligibles à la procédure d'abattage partiel, les tests d'IDS ont été réalisés par une injection de 0,1 ml de dérivés protéiques purifiés (PPD) bovins titré à 20 000 UCT/ml au niveau de l'encolure, avec mesure du pli de peau au moment de l'injection et 72h après.

Pour certains résultats d'IDC, la valeur numérique de l'épaississement du pli de peau au site d'injection de la tuberculine bovine (B3-B0) était disponible. Le résultat d'IDS correspondant a pu en être déduit, ce qui a permis d'obtenir un maximum de résultats d'IDS.

L'interprétation des données a été faite selon la réglementation en vigueur : lorsque la différence B3-B0 était strictement inférieure à 2 le résultat du test était négatif, lorsqu'elle était comprise dans l'intervalle [2 ;4[ le résultat était considéré comme douteux, et lorsqu'elle était supérieure ou égale à 4, le résultat était positif.

Les tests d'IFN ont été réalisés avec le kit Bovigam®1G, avec comme types de réactifs de stimulation le PPD (Lelystad source) et le PC-EC (cocktail d'antigènes avec des peptides dérivés d'ESAT-6 et CFP-10) (Anses, 2012). Les résultats étaient exprimés sous la forme d'un pourcentage de densité optique (%DO) selon la formule normalisée suivante :

$$\% \text{ D.O.} = (\text{D.O.Echantillon} - \text{D.O.Temoin Negatif}) / (\text{D.O.Temoin positif} - \text{D.O.Temoin Negatif})$$

En fonction des pourcentages obtenus, le résultat au test est positif, négatif, ou divergent (lorsque les résultats de PPD d'une part et de CFP-10 et ESAT-6 d'autre part ne convergent pas vers la même conclusion).

L'annexe 5 présente plus en détail la méthode d'analyse et d'interprétation du test IFN.

## II.2.2 Evaluation de la qualité du protocole

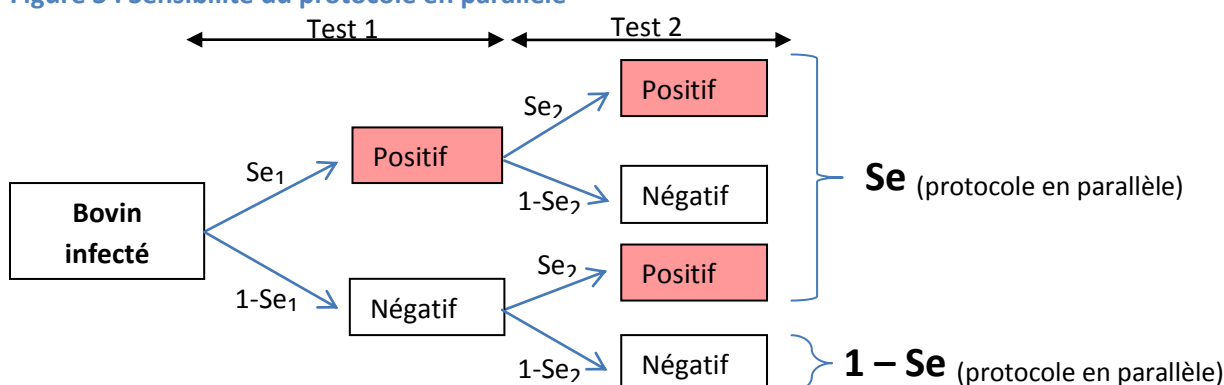
L'objectif de cette étude était d'étudier l'efficacité du protocole utilisant l'ID et l'IFN associées en parallèle, et en particulier sa sensibilité, dans le contexte de d'un élevage infecté en abattage partiel.

La sensibilité des tests étudiés (ID et IFN) considérés individuellement puis associés en parallèle a été estimée.

La sensibilité des tests et du protocole en parallèle a été évaluée à partir des résultats de bovins tuberculeux. Le gold standard choisi pour qualifier un bovin de tuberculeux (*i.e.* référence positive) était un résultat PCR positif et/ou un résultat de culture positive à *M. bovis*.

La sensibilité théorique du protocole en parallèle, sous hypothèse d'indépendance des tests, est schématisée dans la figure 3.

Figure 3 : Sensibilité du protocole en parallèle





Soit :  $Se \text{ (test 1 et test 2 en parallèle)} = 1 - (1-Se1)*(1-Se2)$

Une évaluation brute de la sensibilité globale réelle du protocole (*i.e.* nombre d'animaux présentant un résultat positif à l'un ou l'autre des tests parmi les bovins tuberculeux) n'était pas réalisable puisque le fait d'être abattu pour un bovin était conditionné par ses résultats à l'IFN et à l'ID (tous les non négatifs à au moins un de ces deux tests étant abattus lorsqu'ils appartenaient à un cheptel infecté). Plutôt que la sensibilité réelle, c'est donc la plus-value de sensibilité apportée par le test IFN sur l'ID seule qui a été évaluée.

L'estimation de la spécificité des tests et du protocole en parallèle n'était pas réalisable en raison du fait qu'aucune référence négative n'était disponible (les animaux abattus dont les résultats d'analyse *post-mortem* étaient négatifs présentaient tous un résultat positif à l'un ou l'autre des deux tests, puisque c'était le critère ayant conduit à leur abattage).

Parmi les 283 bovins trouvés tuberculeux entre 2009 et 2013 (par PCR et/ou culture), 73 avaient des résultats d'IFN et d'ID renseignés (conclusion d'analyse possible, date d'analyse renseignée). Seuls ces 73 bovins ont pu permettre de faire une estimation de la sensibilité du protocole.

Les tests ID et IFN qu'ils avaient subis étaient espacés de moins de 15 jours (l'IFN était réalisé au plus tôt 3 jours avant l'ID et au maximum 8 jours après) et réalisées à moins de 6 mois de l'abattage du bovin. Ces critères de temps ont été fixés afin d'obtenir le meilleur rapport bénéfice/risque : obtenir un maximum de données analysables sans trop biaiser les résultats. En effet, bien qu'idéalement les tests ID et IFN devraient être réalisés à moins de 3 jours d'intervalle, certaines difficultés de terrain peuvent allonger ce délai. Nous avons donc élargi l'intervalle de temps entre ces deux analyses. Concernant le filtre d'imposer un maximum de 6 mois d'écart entre la date des analyses et l'abattage du bovin concerné, cela avait pour but d'éviter de prendre des résultats d'analyse trop anciens (le bovin en question aurait pu être contaminé entre le test et l'abattage). Etant donné le protocole en parallèle appliqué dans les élevages infectés de Côte d'Or, les bovins étaient généralement abattus dans les deux mois suivant la réalisation des tests : seuls 8 bovins avaient un délai entre résultat d'analyse et abattage supérieur à 2 mois.

### II.3 Outils statistiques et informatiques utilisés

La plupart des étapes de tri des enregistrements ont été effectuées à l'aide des logiciels Access et Excel. L'étape de sélection des bovins avec des résultats d'IFN et d'ID les plus récents espacés de moins de 15 jours a été réalisée à l'aide du logiciel SAS.

Dans tous les tests statistiques effectués, le risque d'erreur  $\alpha$  a été fixé à 5%.  
Les intervalles de confiance ont été fixés à 95%.

## III. Résultats

### III.1 Typologie des élevages infectés de Côte d'Or, fréquence des différents types d'abattage et indicateurs de pertes économiques

#### III.1.1 Effectifs

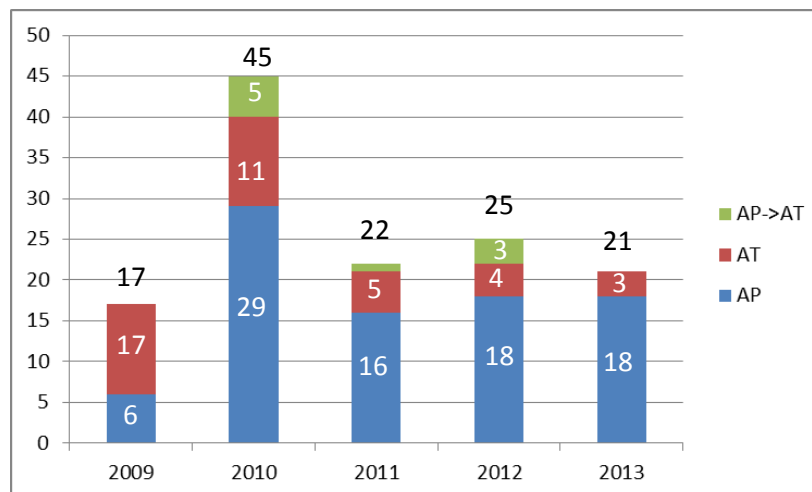
Le département de la Côte d'Or comptait 1709 exploitations de bovins en 2010 (Agreste Bourgogne, 2010), majoritairement en allaitants. Au total, 130 foyers ont été détectés entre 2009 et 2013 en Côte d'Or, ce qui correspond à 118 cheptels (certains cheptels ont été foyers plusieurs fois). Il y a eu



87 cas d'abattage partiel, 34 cas d'abattage total et 9 d'abattage partiel étant passés en abattage total durant l'APDI.

Est présentée dans la figure 4 la répartition des types d'assainissement par année.

**Figure 4 : Effectifs des abattages de troupeaux infectés de tuberculose bovine en Côte d'Or selon le protocole suivi, entre 2009 et 2013**



On constate une augmentation de la proportion de procédures d'abattage partiel par rapport aux procédures d'abattage total sur ces 5 années étudiées.

On peut également noter 9 échecs d'abattage partiels ayant évolué en abattage total (AP->AT). Les explications de ces échecs sont détaillées dans le paragraphe III.1.10.

### III.1.2 Réinfections

A partir de la liste des cheptels ayant été placés sous APDI depuis 2002 inclus dans notre étude, on note qu'entre 2009 et 2013, 16 cheptels ont eu leur 2<sup>ème</sup> APDI, huit cheptels leur 3<sup>ème</sup>, et un son 4<sup>ème</sup>.

Dans le tableau 4 sont notés en pourcentages les types d'assainissements réalisés pour les élevages qui se sont réinfectés entre 2009 et 2013, et ce depuis 2002.

**Tableau 4 : Types d'assainissement pour les cheptels en réinfection**

	2009	2010	2011	2012	2013
AP*	1	8	3	7	8
AT*	3	4	1	1	0
AP-AT*	0	1	0	0	0

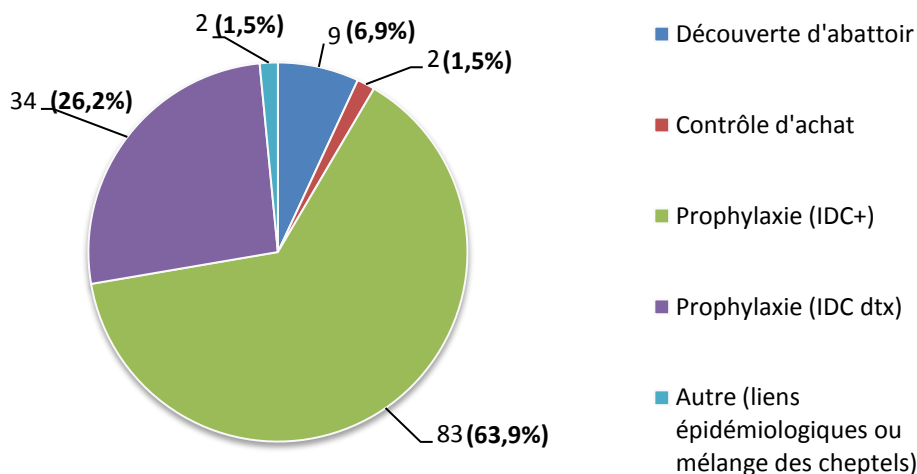
\*AP : abattage partiel ; AT : abattage total ; AP-AT : cheptels ayant débuté une procédure d'abattage partiel s'étant terminée par un abattage total des bovins de l'exploitation

Ceci est à remettre en perspective avec l'augmentation de la proportion de cheptels suivant un AP entre 2009 et 2013, indépendamment du fait d'être réinfecté.

### III.1.3 Origine et détection des foyers

Sur les 130 foyers mis en évidence en Côte d'Or entre 2009 et 2013, 9 ont été détectés par l'observation de lésions à l'abattoir, 2 lors de contrôles à l'achat, 83 grâce aux investigations réalisées suite à un résultat positif en IDC lors des campagnes de prophylaxie, 34 grâce aux investigations réalisées suite à un résultat douteux en IDC lors des campagnes de prophylaxie, et 2 suite à des mélanges de cheptels, comme présenté dans la figure 5.

Figure 5 : Origine des détections des foyers



- 64% des foyers ont été détectés grâce aux investigations réalisées suite à un résultat positif en IDC au cours de la prophylaxie.
- 26% des foyers ont été détectés grâce aux investigations réalisées suite à un résultat douteux en IDC au cours de la prophylaxie.

### III.1.4 Distinction zone « rouge »/zone « blanche »

Le département de la Côte d'Or est divisé en deux zones : une zone à fort risque épidémiologique de tuberculose bovine, regroupant historiquement les foyers et nommée « zone rouge » et une zone à faible risque épidémiologique et nommée « zone blanche ». Une carte de ces zones dans le département est présentée en annexe 5.

Les pourcentages de cas des différents types d'abattage des élevages situés dans chaque zone sont indiqués dans le tableau 5 ci-après.

Tableau 5 : Pourcentage des foyers de tuberculose bovine du département 21 selon le zonage du département

	AP*	AT*	AP->AT*
<b>Rouge</b>	<b>10%</b> (9/87)	<b>15%</b> (5/34)	<b>22%</b> (2/9)
<b>Blanche</b>	<b>90%</b> (78/87)	<b>85%</b> (29/34)	<b>78%</b> (7/9)

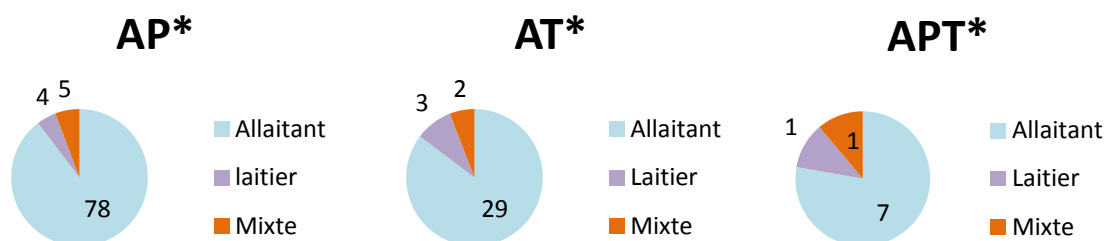
\*AP : abattage partiel ; AT : abattage total ; AP-AT : cheptels ayant débuté une procédure d'abattage partiel s'étant terminée par un abattage total des bovins de l'exploitation

On constate que le type d'abattage (partiel ou total), dans les cheptels infectés ne semblait pas dépendre du fait de se trouver ou non en zone rouge.

### III.1.5 Activité des élevages

Les élevages infectés étaient majoritairement des élevages allaitants (figure 6), mais ceci correspond à l'activité principale du département de la Côte d'Or.

Figure 6 : Activité des élevages infectés de Côte d'Or selon le protocole d'assainissement



\*AP : abattage partiel ; AT : abattage total ; AP-AT : cheptels ayant débuté une procédure d'abattage partiel s'étant terminée par un abattage total des bovins de l'exploitation

- **Aucune différence de chance de subir un abattage total ou partiel selon le type d'activité des cheptels n'a été mise en évidence.**

Dans le tableau 6 sont indiquées les répartitions en pourcentages des activités des élevages infectés, ainsi que la proportion des activités d'élevages bovins de la Côte d'Or (AGRESTE, 2010).

Tableau 6 : Répartition des élevages foyers selon leur activité et le type de protocole d'assainissement comparé à la répartition des élevages selon leur activité en Côte d'Or

	AP	AT	AP->AT	Côte d'Or*
<b>Allaitant</b>	89,7	85,3	77,8	83,1
<b>Laitier</b>	4,6	8,8	11,1	12,3
<b>Mixte</b>	5,7	5,9	11,1	4,6
<b>TOTAL effectif</b>	87	34	9	1709

\*Données provisoires 2010 - Agreste Bourgogne

Concernant les élevages en abattage partiel et en abattage total, la proportion des élevages allaitants et mixtes est concordante avec la proportion des cheptels en Côte d'Or. Par contre, la proportion des élevages laitiers est plus faible pour les cheptels en AP que dans le département, ce qui n'est pas le cas des cheptels en AT (p-value = 0,031).

### III.1.6 Taille des élevages

De 2009 à 2013, la médiane du nombre de bovins par élevage était de 221 pour les cheptels en AP, de 179 pour les cheptels et AT et de 180 pour les cheptels en AP-AT.

L'ensemble des informations concernant la taille des élevages foyers est détaillée dans le tableau 7.

Tableau 7 : Nombre de bovins par exploitation dans les cheptels atteints de tuberculose bovine selon le type de protocole d'assainissement suivi

	AP	AT	AP-AT
Min	38	23	134
Max	464	498	428
Médiane	221	179	180
Moyenne	219	206	210

Ecart-type	102	122	94
Nb cheptels	81	34	9

Si l'on considère toutes les exploitations détenant des bovins en Côte d'Or (1709), on compte 224 555 bovins. Ce qui donne une moyenne brute de 131 bovins par exploitation. Ceci prend en compte les exploitations faisant de la poly-culture et du poly-élevage. En ne prenant en compte que les moyennes et grandes exploitations (ayant une production brute standard > 25 000 €), on compte 221 108 bovins pour 1514 exploitations, soit une moyenne de 146 bovins par exploitation (AGRESTE – DRAAF Bourgogne – Recensement Agricole 2010).

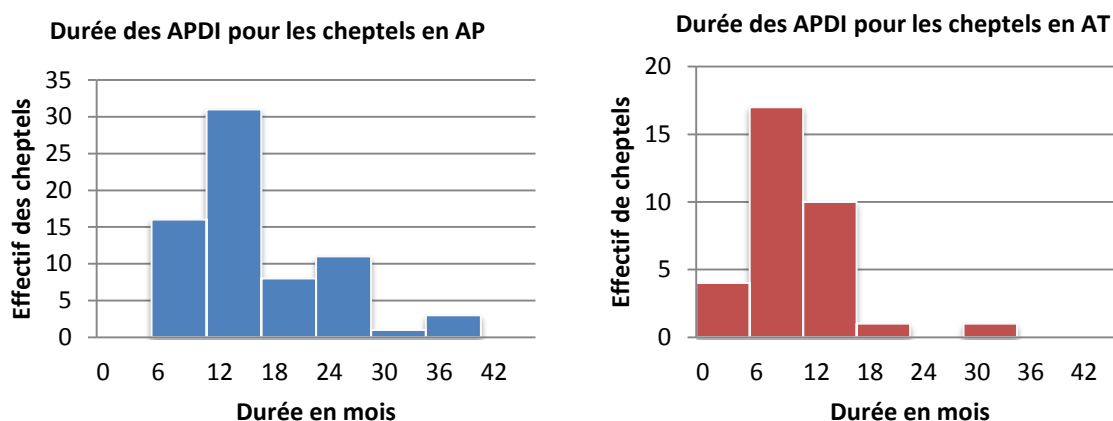
Le nombre d'animaux dans les foyers semble statistiquement plus grand que le nombre moyen d'animaux dans les élevages de Côte d'Or, bien que le test de Student n'ait pu être réalisé par absence de données détaillées des tailles de chaque cheptel de la Côte d'Or.

On constate donc que les cheptels infectés par *M bovis* sont de taille plus importante que la moyenne des cheptels de Côte d'Or, ce qui coïncide avec le fait que plus la taille d'un cheptel est grande, plus le risque d'interaction avec un animal infecté du cheptel est élevé (Brooks-Pollock et Keeling, 2009).

### III.1.7 Durée des APDI

La répartition des cheptels requalifiés sont représentés dans la figure 7, selon le type de protocole d'assainissement suivi. Il s'agit des cheptels dont la date d'APDI est postérieure au 22/12/2008 et la date de requalification antérieure au 21/02/2014, soit 70 cheptels pour les élevages en AP et 33 pour les élevages en AT.

Figure 7 : Répartition des durées de l'APDI\* en mois pour les cheptels en AP\* et en AT\*



\*APDI : arrêté préfectoral portant déclaration d'infection ; AP : abattage partiel ; AT : abattage total

La requalification « officiellement indemne » des cheptels ayant subi un abattage total dépend du moment de rachat des animaux : il faut 2 contrôles espacés d'au moins 6 mois et de moins d'un an. Certains élevages ont attendu très longtemps avant de racheter, ce qui explique la disparité des durées d'APDI.

N.B : Concernant les deux cheptels en abattage total ayant une durée d'APDI supérieure à 18 mois, il s'agit d'un arrêt d'activité de la part des éleveurs (suivi du rachat par un proche).

Sont détaillées dans le tableau 8 les informations sur la durée des APDI des cheptels foyers.

**Tableau 8 : Informations détaillées sur la durée des APDI en mois.**

	AP*	AT*	AP-AT*
<b>Moyenne</b>	17,3	11,2	14
<b>Médiane</b>	14,4	10,5	12,9
<b>Minimum</b>	6,5	4,8	7
<b>Maximum</b>	40,8	35,8	25,4

\*AP : abattage partiel ; AT : abattage total ; AP-AT : cheptels ayant débuté une procédure d'abattage partiel s'étant terminée par un abattage total des bovins de l'exploitation

- **La durée d'APDI est plus longue pour les élevages en abattage partiel.**

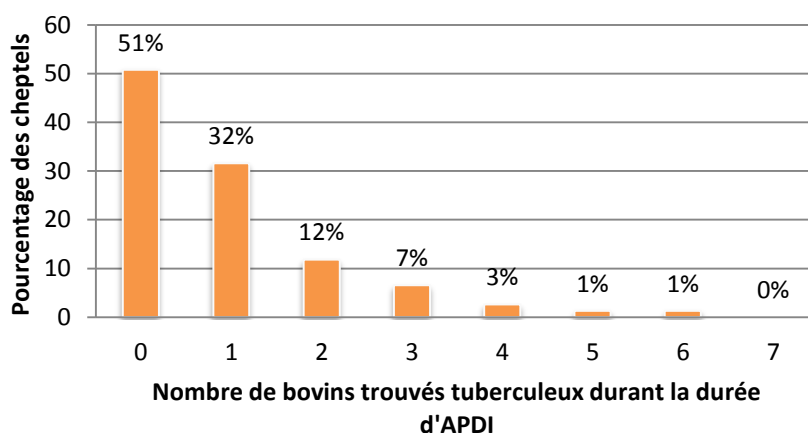
### III.1.8 Nombre de bovins trouvés infectés durant la phase d'assainissement

En ne considérant que résultats de laboratoire des prélèvements réalisés en abattoir à compter de la date de l'APDI et jusqu'à la date de requalification, on dénombre qu'au maximum 6 bovins ont été trouvés positifs dans un cheptel. La majorité des cheptels ne présentait que 0 ou 1 bovin tuberculeux (après élimination du ou des tuberculeux ayant permis de détecter le cheptel foyer), soit 76% des 76 cheptels requalifiés ayant des données renseignées dans la table correspondante.

La répartition du nombre d'infectés par troupeau est présentée dans la figure 8 (résultats de 76 cheptels).

Cinq bovins ont eu un résultat PCR douteux, ils ont été considérés comme tuberculeux étant donné le contexte épidémiologique (élevage foyer).

**Figure 8 : Répartition du nombre de bovins PCR+ et/ou culture+ à *M. bovis* par troupeau durant les APDI.**



### III.1.9 Nombre de bovins abattus durant la phase d'assainissement

En général, pour les cheptels en AT, 100% des bovins sont abattus durant la phase d'assainissement. Cependant, puisqu'ils obtiennent leur requalification après 2 contrôles négatifs suite au rachat de nouveaux bovins, il arrive que certains cheptels abattent plus de 100% de leur effectif initial (effectif au moment de l'APDI) : il s'agit des éventuels bovins rachetés et ayant des résultats d'ID ou d'IFN non négatifs au cours de l'un des recontrôles.

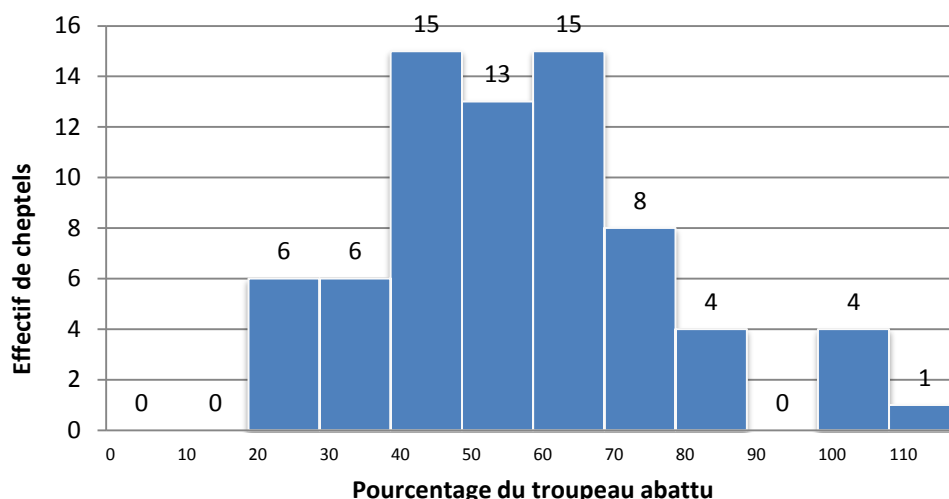
Deux cheptels en AT, un cheptel en AP-AT, et deux cheptels en AP sont dans ce cas.

En sommant les bovins qui auraient été abattus si tous les foyers de tuberculose de Côte d'Or gérés en AP avaient suivi une procédure d'AT entre 2009 et 2013 (= 6450 bovins), et en lui soustrayant les

bovins abattus en plus des 100% théoriques (= 48 bovins), on compte **6402 bovins qui ont pu être épargnés** grâce à la mise en place de l'abattage partiel en Côte d'Or au cours de ces 4 années.

En s'intéressant au pourcentage d'animaux qui ont été abattus entre le début et la fin de l'APDI dans les cheptels en AP, on constate que dans plus de la moitié des élevages (58%), entre 40 et 70% des animaux ont dû être abattus. La répartition en pourcentage des 72 troupeaux en AP est présentée dans la figure 9.

**Figure 9 : Répartition des cheptels en AP en fonction du pourcentage de bovins abattus entre le début et la fin de l'APDI**



Pour les cheptels en AT, 31 cheptels sur les 33 ayant recouvré leur statut indemne ont abattu 100% de leur troupeau durant l'APDI. Les deux autres ont abattu plus de 100% de leur troupeau (101,3 et 107,8%). Pour les cheptels en AP-AT, 8 cheptels sur les 9 ayant recouvré leur statut indemne ont abattu 100% de leur troupeau durant l'APDI. L'autre cheptel a abattu plus de 100% de son troupeau (109,4%).

### III.1.10 Les échecs d'abattage partiel

Neuf cheptels en AP sont passés à une procédure d'AT durant leur APDI :

- quatre d'entre eux sur conseil/décision de la DDPP car ils avaient eu trop de résultats positifs en PCR et/ou IDC lors des premiers contrôles d'assainissement
- et cinq d'entre eux par abandon de l'éleveur qui trouvait le protocole d'assainissement trop contraignant (contrôles trop nombreux, isolement des animaux sur les pâtures).

#### BILAN :

- On constate une augmentation de la proportion de procédures d'abattage partiel par rapport aux procédures d'abattage total sur ces 5 années étudiées.
- Sur les 118 cheptels foyers depuis 2009, il s'agissait pour 16 d'entre eux d'un 2<sup>ème</sup> APDI depuis 2002, pour huit de leur 3<sup>ème</sup>, et pour un de son 4<sup>ème</sup>.
- 90% des foyers ont été détectés suite à l'investigation d'une IDC non négative en prophylaxie.
- La durée médiane de l'APDI des cheptels suivant un AP est de 14,4 mois, et pour les cheptels suivant un AT elle est de 10,5 mois.
- Pour 76% des cheptels, une fois l'APDI posé, seulement 1 voire 0 bovins sont trouvés infectés grâce aux analyses *post-mortem*.
- La ré-autorisation de l'AP depuis 2009 a permis d'épargner 6402 bovins en Côte d'Or entre 2009 et 2013.
- En moyenne, 59% du troupeau au moment de l'APDI aura été abattu avant la requalification "officiellement indemne".
- Il est à noter qu'en Côte d'Or, entre 2009 et 2013, près de 9% des AP se sont terminés en AT.

## III.2 Estimation de la sensibilité du protocole en parallèle

### III.2.1 Evaluation de la sensibilité individuelle des tests utilisés

Parmi les 283 bovins diagnostiqués tuberculeux à l'abattoir, 204 avaient des résultats d'intradermotuberculation analysables et datant de moins de 6 mois avant leur abattage, et 121 d'entre eux avaient des résultats d'interféron analysables et datant de moins de 6 mois avant leur abattage.

Les résultats individuels des tests ID et IFN sont présentés respectivement dans les tableaux 9 et 10. Ces sensibilités restent fictives puisque l'abattage du bovin est conditionnel à la positivité d'un des deux tests (sauf dans le cas des bovins qui ont permis d'identifier les cheptels-foyers, donc que la procédure d'assainissement soit mise en place). Elles ne peuvent être donc que surestimées selon le calcul ci-dessous.

En considérant les résultats douteux comme négatifs, la sensibilité individuelle de l'IDC était de 58,5% [49,6 ; 67,4] (IC 95%) (calculée à partir de résultats de 118 bovins) dans les cheptels foyers. En considérant les résultats douteux comme positifs, la sensibilité individuelle de l'IDC était alors de 95,8% [92,1 ; 99,4] (IC 95%).

Concernant les IDS, en considérant les résultats douteux comme négatifs, la sensibilité individuelle de l'IDS était de 90,6% [80,5 ; 100] (IC 95%), et en considérant les résultats douteux comme positifs, de 100% [89,3 ; 100].

La sensibilité individuelle de l'IFN était de 64,6% [55,9 ; 73,3] (IC95%) (calculée à partir de résultats de 115 bovins).

**Tableau 9 : Résultats aux tests IFN et ID pour les bovins tuberculeux**

Résultat au test IDC	Nb de bovins	Résultat au test IDS	Nb de bovins
Négatif	5	Négatif	0
Douteux	44	Douteux	3
Positif	69	Positif	29
<b>TOTAL</b>	<b>118 bovins</b>	<b>TOTAL</b>	<b>32 bovins</b>

**Tableau 10 : Résultats aux tests IFN pour les bovins tuberculeux**

Résultat d'IFN	Nb de bovins
Négatif	10
Divergent	31
Positif	74
Ininterprétable	6
<b>TOTAL</b>	<b>121 bovins</b>

### III.2.2 Evaluation théorique du protocole en parallèle

Entre 2009 et 2013, 283 bovins ont été trouvés tuberculeux, selon la référence positive choisie dans cette étude, à savoir avoir un résultat PCR positif et/ou être positif à la culture de *M. bovis*. Parmi eux, 73 présentaient des résultats exploitables pour notre étude (*i.e.* appartenaient à des troupeaux foyers soumis à un abattage partiel et avaient été soumis aux tests étudiés dans un intervalle de temps inférieur à 15 jours).

L'ensemble de leurs résultats d'IFN et d'IDS est détaillé ci-dessous dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Synthèse des résultats aux tests IDS et IFN pour les bovins tuberculeux entrés dans le protocole**

IDS*	IFN	Nb bovins
+	+	40
-	+	1
<b>Douteux</b>	+	8
+	-	4
-	-	0
<b>Douteux</b>	-	1
+	<b>Divergent</b>	11
-	<b>Divergent</b>	0
<b>Douteux</b>	<b>Divergent</b>	8
<b>Total : 73 bovins</b>		

\*les résultats d'IDC étant lus comme des résultats d'IDS par B3-B0

Sur les résultats d'ID, 29 correspondaient à des résultats d'IDS, 41 à des résultats d'IDC, et 3 étaient non renseignés.

On constate que la plus-value apportée par l'IFN sur l'IDS est faible : en considérant que tous les bovins non-négatifs au test d'intradermotuberculation ainsi qu'au dosage de l'IFN soient abattus, seul 1 bovin sur les 73 n'aurait pas été détecté sans l'IFN. En prenant un critère de décision plus souple, « seuls les bovins positifs à au moins un des deux tests sont abattus », on obtient une plus-value de 9 bovins détectés uniquement grâce à l'IFN.

### III.2.3 Estimation théorique de la sensibilité du protocole en parallèle (sous hypothèse d'indépendance des tests)

En considérant les tests comme indépendants, on peut calculer la sensibilité théorique du protocole en parallèle (sous hypothèse d'indépendance des tests) :

- IDS utilisée en parallèle de l'IFN (les douteux étant considérés comme négatifs) :  
 $Se = 1 - (1 - Se_{IFN}) * (1 - Se_{IDS}) = 0,967$  [0,914 ; 1] (IC 95%)  
 IDS utilisée en parallèle de l'IFN (les douteux étant considérés comme positifs) :  
 $Se = 1 - (1 - Se_{IFN}) * (1 - Se_{IDS}) = 1$  [0,914 ; 1] (IC 95%)
- IDC utilisée en parallèle de l'IFN (les douteux étant considérés comme négatifs) :  
 $Se = 1 - (1 - Se_{IFN}) * (1 - Se_{IDC}) = 0,853$  [0,778 ; 0,926] (IC 95%)  
 IDC utilisée en parallèle de l'IFN (les douteux étant considérés comme positifs) :  
 $Se = 1 - (1 - Se_{IFN}) * (1 - Se_{IDC}) = 0,985$  [0,965 ; 1] (IC 95%)

Il est à souligner que les deux tests reposent sur le même principe biologique qui est la réaction allergique, qu'ils ne sont de ce fait pas indépendants. De plus, on pourra souligner de nouveau le fait que l'abattage des bovins (et donc la détection de leur statut infecté en *post-mortem*) se fait conditionnellement au fait d'avoir des résultats non négatifs à l'un de ces deux tests, ce qui biaise énormément les deux résultats de sensibilité calculés ci-dessus.

### III.3 Estimation de la Spécificité du protocole en parallèle



L'ensemble des résultats d'IFN et d'IDS des bovins négatifs en PCR et en culture à *M bovis* après abattage, et faisant partie des cheptels en AP, en AT ou en AP-AT est résumé dans le tableau 12.

**Tableau 12 : Synthèse des résultats aux tests allergiques pour les bovins non tuberculeux ayant eu des analyses en parallèle**

IFN	IDS	Nb bovins
+	+	12
-	+	219
<b>Divergent</b>	+	138
+	-	1
-	-	48
<b>Divergent</b>	-	10
+	Douteux	27
-	Douteux	258
<b>Divergent</b>	Douteux	163
<b>Total :</b>		<b>893 bovins</b>

On constate que la spécificité de la détection n'est que faiblement dégradée par l'IFN : seulement 1.2% (11 bovins sur les 893) ont été faussement considérés comme tuberculeux, selon le critère « seuls les bovins non négatifs à au moins un des deux tests sont abattus ».

En prenant le critère « seuls les bovins positifs à au moins un des deux tests sont abattus », la dégradation de la spécificité serait alors de 4.3% (38 bovins sur les 893).

#### III.4 Evaluation réelle du protocole mis en place en Côte d'Or (IDS et IDC // IFN)

L'analyse ci-dessus ne prend pas en compte le contexte particulier de la Côte d'Or avec la présence importante de mycobactéries atypiques. Dans certains élevages en abattage partiel des IDC sont réalisées à la place des IDS afin de s'adapter aux différents contextes épidémiologique et d'obtenir ainsi une meilleure spécificité.

La synthèse des résultats aux tests IFN et ID (simples ou comparatives) pour les bovins tuberculeux, tels qu'ils sont réellement réalisés sur le terrain, est présentée dans le tableau 13.

**Tableau 13 : Synthèse des résultats aux tests allergiques tels qu'ils réellement réalisés en Côte d'Or pour les bovins tuberculeux ayant eu des analyses en parallèle**

IFN	ID	Nb bovins
+	+	31
+	-	1
+	Douteux	26
-	+	5
-	-	0
-	Douteux	0
<b>Divergent</b>	+	9
<b>Divergent</b>	-	3
<b>Divergent</b>	Douteux	15
<b>Ininterprétable</b>	+	2
<b>Ininterprétable</b>	-	0
<b>Ininterprétable</b>	Douteux	2
<b>TOTAL</b>		<b>94 Bovins</b>

On constate que la plus-value apportée par l'IFN sur l'ID (simple ou comparative) est faible : en considérant que tous les bovins non-négatifs au test d'intradermotuberculation ainsi qu'au dosage de l'IFN soient abattus, seuls 4 bovins sur les 94 n'auraient pas été détectés sans l'IFN. En prenant un critère de décision plus souple, « seuls les bovins positifs à au moins un des deux tests sont abattus », on obtient une plus-value de 27 bovins détectés uniquement grâce à l'IFN.

- ✓ La plus-value théorique des tests IFN réalisés en parallèle des IDS est de 1 bovin sur 73
- ✓ La plus-value réelle des tests IFN réalisés en parallèle des ID (simples ou comparatives) est de 4 bovins sur 94  
Se(IFNseul) = 64,6 % [55,9 ; 73,3] (IC 95%)  
Se(IDS seul\*) = 100% [89,3 ; 100] (IC 95%)  
Se(IDC seul\*) = 95,8 % [92,1 ; 99,4] (IC 95%)
- ✓ Se théorique protocole parallèle (sous hypothèse d'indépendance des tests):  
Se théorique (IDS\* // IFN) : 1 [0,914 ; 1] (IC 95%)  
Se théorique (IDC \*// IFN) : 0,985 [0,965 ; 1] (IC 95%)

\*les résultats d'ID douteux étant considérés comme positifs

Cependant, vu les contraintes d'analyse qu'implique le protocole en parallèle ainsi que les imperfections de la base de données exploitée, ces résultats sont à prendre avec prudence.

## IV. Discussion

### IV.1 Méthodes utilisées

#### Taille et qualité de l'échantillon analysé

Le gain de sensibilité permis par le test IFN réalisé en parallèle des intradermotuberculinations semble faible. Ceci est à modérer aux vues des faibles effectifs analysables (73 bovins en IDS et 94 en ID simple ou comparative) ; d'une part car nous disposons de relativement peu de recul par rapport à l'utilisation de ces tests en parallèle (seulement depuis 2009) et qu'il s'agit d'une zone géographique restreinte (Côte d'Or), d'autre part parce que la base de données de la DDPP21 est incomplète.

#### Interprétation des tests

Cette étude est une première évaluation de l'application du protocole IFN et IDS en parallèle en France. Or, le département de la Côte d'Or n'offre pas nécessairement un échantillon représentatif de la France, puisque la présence importante de mycobactéries atypiques rend nécessaire l'utilisation d'IDC en parallèle de l'IFN au lieu d'IDS dans certains élevages.

Dans cette étude, les résultats d'IDC ont été lus comme des résultats d'IDS. Le nombre de résultats positifs en IDS est nécessairement supérieur au nombre de résultats positifs en IDC réellement observés en Côte d'Or. Par ailleurs, les résultats d'IDS déduits d'une IDC ont été lus de manière objective, ce qui n'est pas le cas lors de la réalisation d'une IDS *sensu stricto* (pour laquelle la lecture subjective du résultat est tolérée).

Les sensibilités des tests IFN et IDS seuls, sont *a priori* surestimées puisque l'abattage des bovins est conditionnel à l'obtention d'au moins un résultat non négatif à l'un de ces deux tests. Malgré cela, elles sont inférieures à celles que l'on peut trouver dans la littérature. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'une étude de terrain : on peut supposer que les conditions de réalisation des tests (conditions de température d'acheminement des prélèvements sanguins pour l'IFN, délais de lecture

des IDS, types de tubes utilisés pour IFN etc.) ne sont pas toujours aussi bien respectées que dans des conditions de laboratoire. Par ailleurs, il est important de noter que dans les élevages en abattage partiel entrés dans le protocole de dépistage en parallèle, les animaux les plus fortement répondeurs à la tuberculine ont déjà été éliminés, ce qui pourrait aboutir à une sous-estimation de la sensibilité de ces tests.

### **Choix du gold standard**

La référence positive choisie (PCR et/ou culture à *M. bovis* positif) est une référence couramment utilisée dans les études des tests de diagnostic de la tuberculose bovine. On sait toutefois que, si sa spécificité est excellente, sa sensibilité n'est pas parfaite.

### **Biais possibles**

Tous les enregistrements pour lesquels les numéros de bovin étaient mal renseignés ont été supprimés lors du nettoyage de la base de données (ex : numéro de travail seul, sans numéro de cheptel). A condition que ces carences informatives surviennent de manière aléatoire (*i.e.* qu'il n'existe pas de lien entre mauvais remplissage de la base et situation épidémiologique du bovin concerné), on peut supposer que cela n'influe pas sur la constitution du pool de résultats analysés.

Concernant les résultats d'analyse, seuls les résultats les plus récents ont été gardés lorsque plusieurs duos « IDS-IFN » à moins de 15 jours d'intervalle et à moins de 6 mois de l'abattage du bovin existaient. Ceci peut avoir pour effet d'analyser essentiellement les bovins sensibilisés à la tuberculine (pour l'ID et non l'IFN), et donc de sélectionner les bovins les moins réagissants à la tuberculine.

De plus, bien que les résultats des études portant sur l'effet de l'injection de tuberculine sur les caractéristiques de l'IFN soient contradictoires, il n'est pas exclu que le délai entre la date de réalisation de l'intradermotuberculation et la date de réalisation du test IFN puisse influencer les sensibilités obtenues (Marassi *et al.*, 2013), ce qui n'a pas pu être pris en compte dans notre étude puisque les bovins pouvaient subir plusieurs intradermotuberculations dans un laps de temps rapproché.

Dans le cas où plusieurs enregistrements de résultats d'analyse d'ID correspondaient à un même bovin pour une même date d'analyse (jusqu'à 130), un seul enregistrement a été gardé : celui où B3 était le plus grand (afin d'éviter de garder un enregistrement non renseigné en B3, noté « 0 »). De la même façon, pour ce même type d'enregistrements fantômes des résultats aux tests IFN, seul l'enregistrement pour lequel le champ « conclusion IFN » était renseigné était gardé. Ce critère de choix est celui qui nous a semblé être le plus judicieux, cependant il se peut que certains enregistrements mal renseignés aient été sélectionnés au lieu de ceux correctement renseignés.

Les différents paramètres physiologiques des bovins n'ont pas pu être pris en compte, notamment l'état de gestation, les traitements éventuels avec des immunodépresseurs, la présence de diarrhée virale bovine/maladie des muqueuses (BVD/MD) ou de paratuberculose. Or, il est prouvé que ces paramètres influent beaucoup sur la réponse aux tests allergiques. Dans l'absolu, il serait intéressant de réaliser une analyse multi-variée afin d'estimer le poids de chacun de ces facteurs sur la réponse aux tests allergiques. Ceci ne pourra être réalisé qu'avec un nombre de données conséquent. Pour faire une telle analyse, il serait également nécessaire de classifier et renseigner chacun des paramètres en question, ce qui serait un travail de saisie des données encore plus fastidieux et chronophage pour les vétérinaires de terrain.

## IV.2 Typologie des foyers et avantages économiques permis grâce à l'AP

Entre 2009 et 2013, on a constaté une augmentation de la proportion de procédures d'AP par rapport aux procédures d'AT, ce qui correspond sûrement à une motivation élevée des acteurs de terrain (éleveurs, DDPP).

Il s'agissait d'une recontamination pour 21% des cheptels foyers (25/118) (données comparées depuis 2002), ce qui est considérable. La préoccupation des différents acteurs impliqués dans la lutte contre la tuberculose bovine au sujet des recontaminations nombreuses est ici appuyée.

Concernant la détection des foyers, si entre 2009 et 2013, 90% des foyers ont été détectés suite à l'investigation d'une IDC non négative en prophylaxie en Côte d'Or, il n'en est pas de même à l'échelle de la France : d'après Fediaevsky *et al.* (2012), 52,2% des foyers étaient découverts en prophylaxie en 2012, 23,3% étaient découverts en abattoir, 2,2% par test au mouvement et 22,2% par enquête épidémiologique (avertissement : les données ayant servi pour ces analyses étaient indiquées comme incomplètes). Le système de détection paraît donc bien plus précoce en Côte d'Or qu'au niveau global de la France, ce qui peut s'expliquer par une attention accrue sur la tuberculose bovine en Côte d'Or, et le choix de schémas décisionnels très sensibles en prophylaxie.

Peu de bovins sont trouvés tuberculeux une fois l'APDI posé. En effet, pour 76% des cheptels, seulement 1 voire 0 bovins sont trouvés infectés (PCR+ et/ou culture+ à *M. bovis*) entre le début et la fin de l'APDI. Cela va dans le sens du choix de la remise en place des AP.

En moyenne, 59% du troupeau au moment de l'APDI aura été abattu avant la requalification "officiellement indemne", ce qui représente une proportion relativement élevée du point de vue de l'éleveur. Il est toutefois à noter la grande disparité des pourcentages de troupeaux abattus ; notamment certains cheptels en AP ont abattus plus de 100% de leur cheptel entre le début et la fin d'APDI, ce qui est en défaveur de la généralisation des abattages totaux.

Bien que 6402 bovins aient pu être épargnés grâce aux procédures d'abattage partiel, la durée médiane des l'APDI des cheptels suivant un AP est significativement plus élevée que pour les cheptels suivant un AT, ce qui a des conséquences économiques et humaines considérables à ne surtout pas négliger. En effet, le blocage des exploitations interdit la vente des bovins et est source de d'une quantité de travail et d'incertitudes difficiles à vivre pour l'éleveur.

On peut rappeler que les procédures d'AP ne sont pas toujours conclusives, comme le montrent les 9 échecs été observés au cours de ces 4 années d'étude.

## IV.3 Efficacité du protocole

L'efficacité du protocole dans sa globalité (sensibilité des IFN et ID associés en parallèle) est difficilement évaluable par une méthode fréquentiste car l'abattage des bovins est conditionnel aux résultats de ces mêmes tests. Il pourrait être intéressant d'utiliser une approche bayésienne afin de s'en affranchir et d'obtenir la sensibilité d'ensemble, ainsi que les sensibilités individuelles des deux tests.

De par la fréquence élevée d'intradermotuberculinations réalisées en prophylaxie en Côte d'Or (annuelle), les bovins les plus réagissant à la tuberculine sont éliminés rapidement, ce qui sélectionne les individus présentant une faible réaction allergique pour les procédures d'abattage partiel. Ceci pourrait en partie expliquer une faible sensibilité du protocole en parallèle, et est en faveur de l'abaissement du seuil de lecture des IFN.

La plus-value apportée par l'IFN sur l'ID semblait faible sur les bovins analysés dans cette étude (1/74 bovins), alors qu'une étude comparable réalisée par Vordermeier *et al.* (2006) présente une plus-value bien meilleure : sur 529 bovins infectés (Gold standard = culture+ à *M. bovis* et/ ou lésions macroscopiques+), 27% ont été détectés grâce à l'IFN et n'auraient pas été détectés par l'IDS.

Il convient néanmoins de garder à l'esprit que le cas de la Côte d'Or, avec la gestion spécifique utilisant les IDC au lieu d'IDS, limite la comparabilité des résultats avec ceux de l'étude de Vordermeier.

Outre les biais possibles présentés en première partie de discussion, cette faible plus-value de sensibilité apportée par l'IFN pourrait être due à un conditionnement des prélèvements sanguins non optimal (durée d'acheminement au laboratoire d'analyse supérieur à 8 heures, température > 24°C), à un seuil de lecture (et donc d'interprétation) du test trop élevé, ou encore à une réaction allergique trop faible des bovins (anergie ou désensibilisation).

Sous réserve d'autres résultats réalisés en France sur l'évaluation du protocole en parallèle (IFN et IDS) concordants avec cette constatation de faible plus-value apportée par l'IFN, il pourrait être intéressant de baisser le seuil de positivité de ce test afin d'augmenter sa sensibilité. De plus, le choix des peptides spécifiques peut également être remis en question vu le contexte dans lequel le test Bovigam® est utilisé dans les cheptels-foyers. Il pourrait être intéressant de se fonder uniquement sur les antigènes les plus sensibles afin d'obtenir une meilleure sensibilité.

La spécificité n'a pas été calculée en méthode fréquentiste puisque les sous-détections sont fréquentes dans le cas de la tuberculose bovine. En effet, dans un contexte de troupeau infecté la valeur prédictive négative est faible et un animal présentant un résultat négatif à l'abattage ne peut pas d'emblée être considéré comme indemne. Enfin, la spécificité du protocole importe peu dans le contexte des cheptels foyers où la détection des bovins infectés est primordiale. Cependant, il faut constater que la moins-value apportée par l'IFN sur l'ID semblait faible dans le contexte où elle a été établie dans cette étude.

Nous pouvons enfin rappeler que les sensibilités isolées des tests IFN, IDC et IDS telles qu'elles ont été calculées sont largement surestimées de par la conditionnalité qu'implique la gestion des cheptels foyers en assainissement par abattage partiel. Les sensibilités théoriques des tests en parallèle sous hypothèse d'indépendance des tests sont pour cela, et pour la non indépendance des tests IFN, IDC et IDS (reposent tous sur une réaction allergique), d'autant plus surestimés.

## Conclusion

Les procédures d'abattage partiel semblent à première vue permettre de ne pas abattre un nombre élevé de bovins et par là même de réaliser des économies directes importantes. Cependant, la plus longue durée d'APDI et donc de blocage des exploitations concernées contrebalance cette économie apparente et atténue le bénéfice apporté à l'éleveur (le non abattage d'une partie de ses bovins est contrebalancé par une gestion plus longue et plus incertaine en abattage partiel).

Il serait intéressant de réaliser un bilan économique plus précis de l'abattage partiel en prenant en compte les économies directes qu'il permet ainsi que les coûts indirects qu'il engendre. Il faudrait pour cela avoir des informations mieux renseignées concernant les frais vétérinaires et le nombre d'analyses réalisées, avoir une estimation des coûts indirects que provoque le blocage d'une exploitation par unité de temps, ainsi que les économies réalisées par la réduction des pertes génétiques.

Enfin, il est à noter que les procédures d'abattage partiel n'aboutissent pas toujours. On peut noter notamment que quatre d'entre eux se sont terminés en abattage total par démotivation de l'éleveur (procédure d'abattage partiel longue et incertaine).

L'évaluation de la mise en œuvre en Côte d'Or entre 2009 et 2013 de l'utilisation de l'interféron gamma en parallèle de l'intradermotuberculination a permis de montrer que la plus-value apportée par l'IFN semble faible (seulement un bovin sur 73 infectés n'aurait pas été détecté sans l'IFN). Une étude sur une plus grande population permettrait de confirmer cette première observation, d'autant que comme mentionné précédemment, les résultats d'IDC ont été analysés comme des résultats d'IDS, alors que le contexte de la Côte d'Or avec une forte présence de mycobactéries atypiques rendait nécessaire des IDC plutôt que des IDS afin d'éviter des résultats faussement positifs.

Les résultats de cette étude sont donc à difficilement transposables à d'autres régions françaises dans lesquelles le contexte épidémiologique diffère. Cependant, il s'agit d'une étude préliminaire sur le sujet dont l'objectif était d'approcher l'idée de l'apport de l'IFN en parallèle à l'IDS.

De plus, l'approche fréquentiste n'est pas nécessairement la plus adaptée à la problématique posée, il serait alors intéressant de réaliser une étude à l'aide de modèles à classe latente afin d'obtenir une sensibilité et une spécificité du protocole dans sa globalité.

**Si les études futures arrivent à la même conclusion que nous au sujet du faible apport en sensibilité de l'IFN, il serait intéressant d'abaisser les seuils d'interprétation de ce test afin d'améliorer sa sensibilité.**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AGRESTE, DRAAF Bourgogne, Recensement Agricole 2010. Actualité et statistique agricole ; Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt.

Anon, 2005. Bovine Tuberculosis (Attestation of the State and General Provision) Order, 1989 (S.I. No 308 of 1989).

Anon, 2008. FVO General Audit (TB) Spain.

Arrêté Ministériel du 16 mars 1990 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective de la tuberculose bovine. Journal Officiel de la République Française (JORF) n°89 du 14 avril 1990.

Arrêté Ministériel du 4 mai 1999 modifiant l'arrêté du 16 mars 1990 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective de la tuberculose bovine et le complétant en matière de tuberculose caprine. Article 6. JORF n°125 du 2 juin 1999.

Arrêté Ministériel du 04 septembre 2008 relatif à l'abattage partiel à titre expérimental de certains troupeaux de bovins infectés de tuberculose dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne. JORF n°13 du 17 septembre 2008.

Arrêté Ministériel du 19 août 2009 modifiant l'arrêté ministériel du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et des caprins. JORF n°42 du 28 août 2009.

Décret N°63-301 du 19 mars 1963 relatif à la prophylaxie de la tuberculose bovine. Articles 2 et 5.

Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), 2012, Saisine n°2012-SA-0011 relative à l'utilisation de certains tests de diagnostic de la tuberculose bovine.

ANSES, 2012. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'utilisation de certains tests de diagnostic de la tuberculose bovine. Saisine n°2012-SA-0011. (Site web : <http://www.anses.fr/Documents/SANT2012sa0011.pdf> , visité le 20/02/2014)

Bénet J.J., 2012. La tuberculose animale. Polycopié Ecole Nationale Vétérinaire. Unité Pédagogique de Maladies contagieuses.

Bénet J.J. et Dufour B., 2014. Analyses de données épidémiologiques produites par la lutte Contre la tuberculose bovine sur le terrain en France.

Boschiroli M.L., 2008. Dans Bénet J.J., La tuberculose animale. Polycopié Ecole Nationale Vétérinaire. Unité Pédagogique de Maladies contagieuses.

Brooks-Pollock et Keeling, 2009. Herd size and bovine tuberculosis persistence in cattle. Preventive Veterinary Medicine. Vol. 92, pp.360-365.

Cardoso M.A., Cardoso R.F., Hirata R.D.C., Hirata M.H., Leite C.Q.F., Santos A.C.B., Siqueira V.L.D., Okano W., Rocha N.S. et Lonardoni M.V.C., 2007. Direct detection of *Mycobacterium bovis* in bovine lymph nodes by PCR. Zoonoses and Public Health. Vol. 56, pp. 465-470.

Cavalerie L., 2012. Evaluation socio-économique de mesures réglementaires en santé animale : abattage total et abattage partiel des foyers de tuberculose bovine en Côte d'Or. Thèse vétérinaire, ENVA.

CE, 2009 : Arrêté du 19 août 2009 modifiant l'arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovinés et des caprins, article 8.

Décret n°2012-845 du 30 juin 2012, relatif aux dispositions générales organisant la prévention, la surveillance et la lutte contre les dangers sanitaires de première et deuxième catégorie.

Directive du Conseil de la Communauté Economique Européenne du 26 juin 1964, 64/432/CEE, relative à des problèmes de police sanitaire en matière d'échanges intracommunautaires d'animaux des espèces bovine et porcine. Journal officiel n° 121 du 29/07/1964 pp. 1977-2012.

Décision 2003/467/CE du 23 juin 2003 modifiée le 31 juillet 2012, établissant le statut d'officiellement indemnes de tuberculose, de brucellose et de leucose bovine enzootique des troupeaux bovins de certains Etats membres et régions d'Etats membres.

Courcoul et al., 2014. Evaluation des caractéristiques des tests : comparaison de la culture bactérienne, de l'histopathologie et de la PCR, 2014. Sous presse dans le numéro 65 de la revue de l'AEEMA.

Note de service DGAL/SDSPA/N2008-8257, du 1<sup>er</sup> octobre 2008, relative à l'abattage partiel à titre expérimental de certains troupeaux de bovins infectés de tuberculose dans les départements 21 et 24.

DGAL, 2012. Questions réponses sur la tuberculose bovine.  
(site web : [http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/QR\\_tuberculose\\_bovine\\_12627\\_cle027cad.pdf](http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/QR_tuberculose_bovine_12627_cle027cad.pdf) ; visitée le 11/02/14)

DGAL, enquête nationale 2005-2007. Dans Bénet, 2012, La Tuberculose Animale, p16.

Dirat C., 2013, Tuberculose bovine : mise à jour bibliographique et situation épidémiologique en France, Thèse ENVA.

Durand B., Gouyet L., Ostyn A., Thorel M.F. et Haddad N., 2004. Intérêt épidémiologique du typage moléculaire de *Mycobacterium bovis*. Bulletin des GTV. 23 janvier/février, pp. 311-314.

Faye S., 2010. Evaluation de nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose bovine : conditions d'utilisation d'un test de dosage d'IFN et d'un test PCR IS6110 en temps réel. Thèse universitaire de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement.

Fediaevsky A., Courcoul A., Boschioli M.L., Reveillaud E., 2013. Tuberculose bovine en France en 2012 : des signaux favorables mais une situation toujours complexe dans certaines zones. Bulletin épidémiologique n°59, p4-10.

Goodchild A.V. et Clifton-Hadley R.S., 2001. Cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. Tuberculosis. Vol. 81 (1-2), pp. 23-41.



Marassi et al., 2013. Carla D. et al. A multidisciplinary approach to diagnose naturally occurring bovine tuberculosis in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* [online]. 2013, vol.33, n.1, p15-20.

OIE, 2005. Manuel Terrestre de l'OIE, Tuberculose bovine. Chapitre 2.3.3. (Site web [http://web.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf\\_fr/Chapitre%20final05%202.3.3\\_Tuberculosebov.pdf](http://web.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/Chapitre%20final05%202.3.3_Tuberculosebov.pdf) , visité le 24/02/2014).

Park D., Qin H., Jain S., Proziosi M., Minuto J., Mathews C., Moser K., Benson C., 2010. Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus. (Site web <http://cid.oxfordjournals.org> visité le 27/02/2014)

Pollock J. M., Welsh M. D., and McNair J., 2005: Immune responses in bovine tuberculosis: towards new strategies for the diagnosis and control of disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*,108 (Not Specified) : 37-43.

Strain S. A. J., McNair J., McDowell S. W. J., 2011: Bovine tuberculosis: A review of diagnostic tests for *M. bovis* infection in cattle. *Bacteriology Branch*

Strain S.A.J, McNair J., McDowell S.W.J., 2012. A Review of the International Application of the Interferon-gamma Test ; *Bacteriology Branch, Veterinary Sciences Division, Agri-Food and Biosciences Institute*

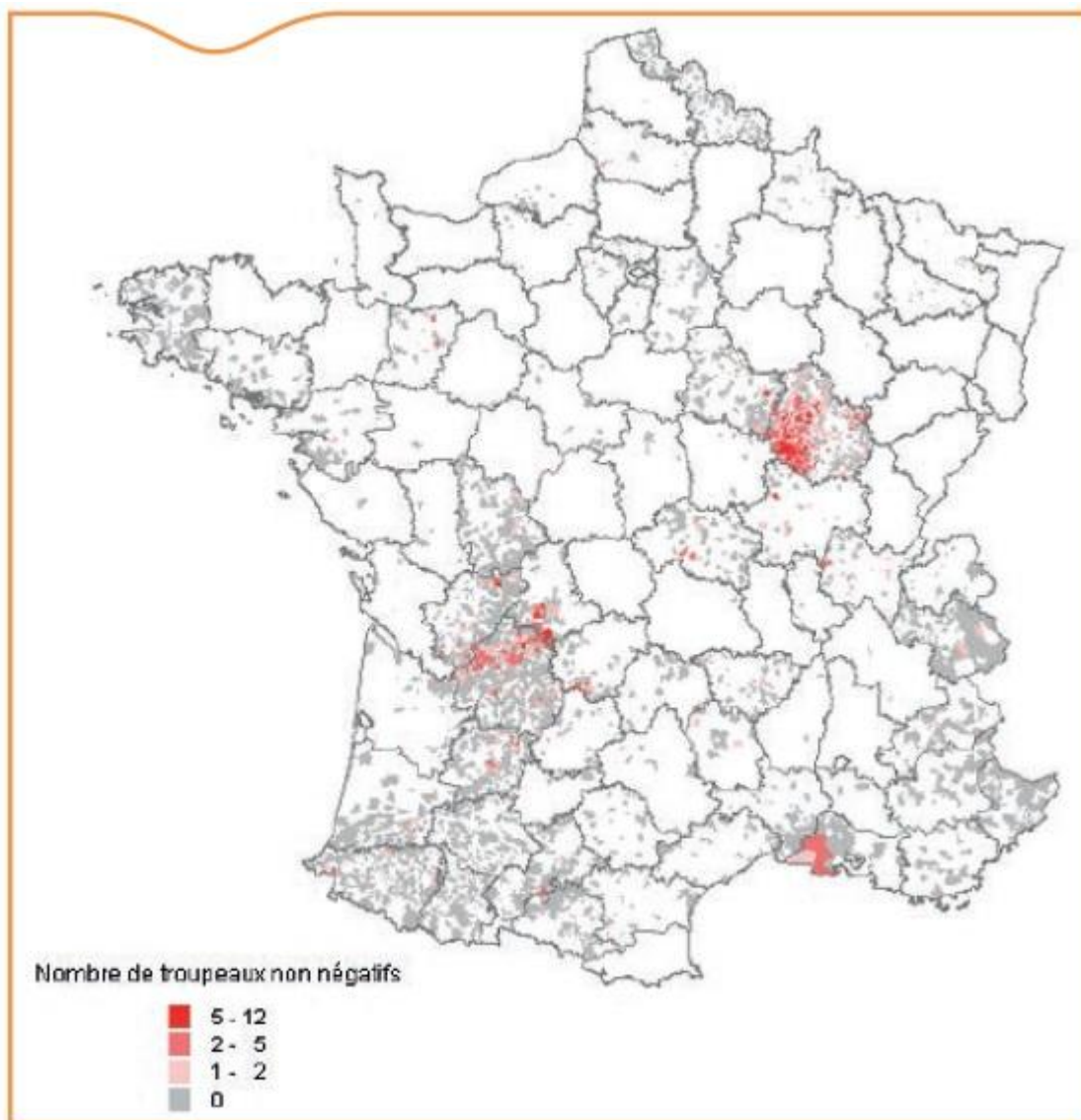
Vordermeier M., Whelan A., Ewer K., Goodchild T., Clifton-Hadley R., Williams J., Hewinson R., 2006. The Bovigam® assay as ancillary test to the Tuberculin skin test. *Government Veterinary Journal*. Volume 16, NO1.

Wood et Jones, 2001. Bovigam : an *in vitro* cellular diagnostic test for bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 81, 147-155.

Wood P.R. and Rothel J.S., 1994. In Faye, 2010. Evaluation de nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose bovine : conditions d'utilisation d'un test de dosage d'IFN et d'un test PCR IS6110 en temps réel. Thèse universitaire de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement.

# ANNEXES

**Annexe 1, Répartition des élevages français présentant des résultats non négatifs durant les campagnes de prophylaxie de la tuberculose bovine (d'après Fediaevsky *et al.*, 2012)**



## Annexe 2 : Définitions réglementaires établies par l'article 12 de l'arrêté du 15/09/2003 révisé

Les animaux de l'espèce bovine sont considérés comme :

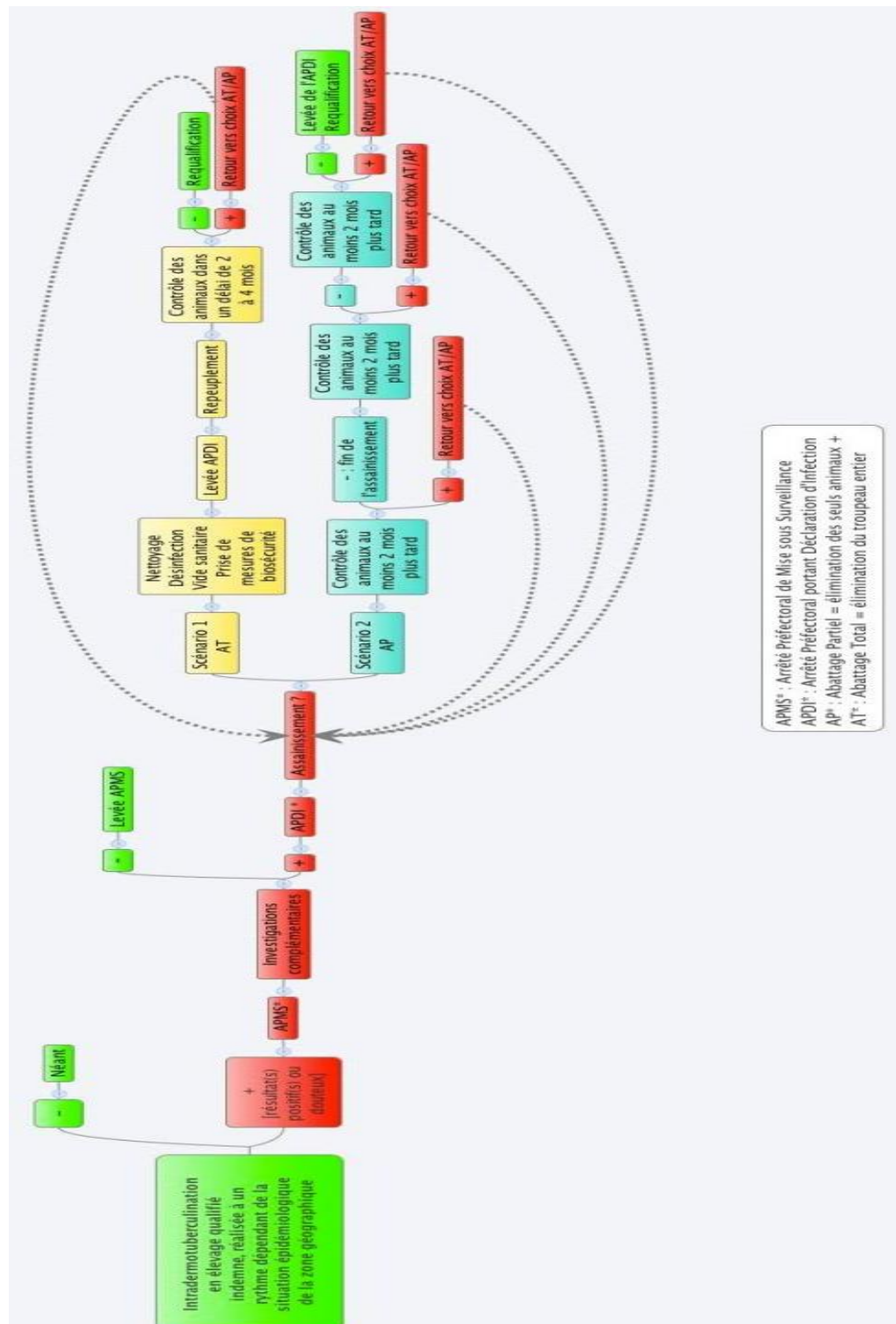
- **Indemnes** de tuberculose lorsqu'ils appartiennent à un troupeau officiellement indemne de tuberculose tel que défini à l'article 13 ;
- **Suspects** d'être infectés de tuberculose dans les cas suivants :
  - o Après constatation de **lésions** évocatrices de tuberculose à l'abattoir ou lors d'une autopsie,
  - o Après constatation de **lésions histologiques** évocatrices de tuberculose par un laboratoire agréé,
  - o Après constatation d'un résultat positif à une analyse par la méthode **PCR** réalisée par un laboratoire agréé,
  - o Après constatation de **réactions tuberculiques** non négatives et/ou de résultats non négatifs au test de dosage de l'**interféron gamma** lors d'une opération de prophylaxie ou d'un autre contrôle quelle que soit la circonstance qui l'ait motivé ;
- **Infectés** de tuberculose dans les cas suivants :
  - o Après constatation de **signes cliniques** de tuberculose associés à une réaction positive à des tests à la **tuberculine**,
  - o Après **isolement** et **identification** de *M. bovis* ou *M. tuberculosis* dans un laboratoire agréé,
  - o Après observation sur le même animal d'une réaction positive à un **test d'intradermotuberculation comparative** associée à l'observation dans un laboratoire agréé de **lésions histologiques** évocatrices de tuberculose,
  - o Après observation, sur le même animal, d'une analyse **PCR** positive associée à l'observation dans un laboratoire agréé de **lésions histologiques** évocatrices de tuberculose,
  - o Après observation, sur le même animal, d'une analyse **PCR** positive associée à l'observation d'une réaction positive à un test d'**intradermotuberculation simple ou comparative**,
  - o Après observation d'une analyse PCR positive sur un animal provenant d'un troupeau suspect d'être infecté.

Les troupeaux bovins sont considérés comme :

- **Indemne** de tuberculose bovine lorsqu'ils ont eu :
  - o Une obtention de la qualification :
    - Absence de signes cliniques de tuberculose
    - Deux intradermotuberculinations avec des résultats négatifs sur les animaux âgés de plus de 6 semaines, espacées de 6 à 12 mois.
  - o Un maintien de la qualification :
    - Dépistage périodique par intradermotuberculation sur les animaux de plus de 6 semaines,
    - Respect des mesures sanitaires à l'introduction de nouveaux animaux,
    - Animaux d'espèces sensibles de statut sanitaire inconnu détenus de façon distincte du troupeau ;
- **Suspect** :
  - o Après constatation de lésions évocatrices de tuberculose à l'abattoir ou lors d'une autopsie ou d'un résultat d'histologie positif ou de PCR positif sans identification du bacille ;

- Après constatation de réactions tuberculiques non négatives et/ou de résultats non négatifs au test de dosage de l'interféron gamma lors d'une opération de prophylaxie ou lors d'un autre contrôle quelle que soit la circonstance qui l'ait motivé ;
- **Infecté** :
  - Après identification de *Mycobacterium bovis* ou *Mycobacterium tuberculosis*, après observation, sur le même animal, d'une analyse PCR positive, associée à l'observation dans un laboratoire agréé de lésions histologiques évocatrices de tuberculose ou sur un animal issu d'un troupeau suspect pour une raison indépendante du résultat positif ;
  - Après observation sur un animal ayant présenté une intradermotuberculation positive de lésions histologiques évocatrices de tuberculose.

### Annexe 3 : Scénarios d'AT et d'AP (d'après Cavalerie, 2012)



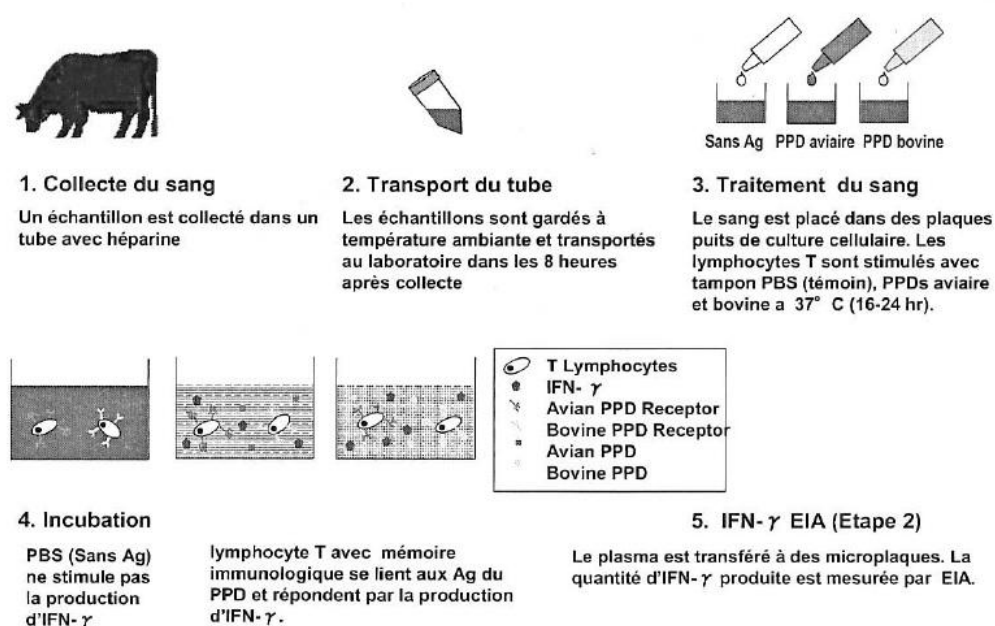
## Annexe 4 : Principe du test de dosage de l'interféron gamma pour le dépistage de la tuberculose bovine et interprétation des résultats du test Bovigam®

(d'après Faye, 2010, et Bénet *et al.*, 2012)

Le dosage de l'interféron gamma (IFN) est réalisé sur prélèvement sanguin (sang total sur tube héparine). Des aliquotes de sang sont mis en présence de différents antigènes : dérivés protéiques purifiés bovin et aviaire (« Purified Derivative Protein », PPD) et antigène témoin négatif (PBS) puis mis en incubation. La mise en présence des antigènes doit être effectuée au plus tard 8 heures après le prélèvement.

L'IFN présent dans le surnageant est dosé par ELISA sandwich (kit commercial Bovigam®), pour chacun des types d'antigènes utilisés, avec quantification par mesure de la densité optique (DO). Si l'animal a déjà été en contact avec un des antigènes utilisés, le contact *in vitro* sang/antigène provoque la production de cytokines (dont l'IFN) par les lymphocytes T.

### Test de dosage INF- $\gamma$



### Dosage d'IFN $\gamma$ par la méthode ELISA (Bovigam®)

Figure d'après M.L. Boschioli, LNR

Avant de procéder à l'interprétation des résultats des échantillons, le bon déroulement de l'analyse (« run » ELISA) doit être contrôlé par la vérification des résultats obtenus pour les témoins positif (TP) et négatif (TN) analysés en triple. En effet, le TP (présence d'IFN $\gamma$  recombinant) permet de confirmer que les Ac anti-IFN $\gamma$  de capture sont bien fixés au fond du puits, mais aussi que les Ac anti-IFN $\gamma$  traceurs sont marqués par l'enzyme *peroxidase de raifort* (HRP). Le TN (absence d'IFN $\gamma$ ) permet de s'assurer de l'absence de fixation non spécifique des Ac anti-IFN $\gamma$  marqués à la HRP. Ainsi, pour valider l'analyse ELISA (par plaque ELISA), les valeurs moyennes de DO (moyenne des 3 valeurs de DO) obtenues pour ces témoins, doivent répondre aux critères suivants :

- Pour le TN : DOTN < 0,130 et dTN < 0,04 (dTN : écart entre les 3 valeurs de DO de TN)

(moyenne des DO des *triplicats* de TN)).

- Pour le TP : DOTP > 0,700 et CVTP < 30 % [(CVTP : coefficient de variation de TP), les DO des *triplicats* de TP ne doivent pas varier de plus de 30 % de leur absorbance moyenne (DOTP)].

Après la validation de la série d'analyses par les témoins, les résultats des échantillons peuvent être interprétés. L'interprétation du test Bovigam® est basée sur le même principe que celui de l'IDC. En effet, il s'agit de comparer les réponses en IFN $\gamma$  obtenues pour les deux Ag tuberculeux, PPDB et PPDA. En raison d'une parenté plus grande de *M. avium* avec *M. avium paratuberculosis* et diverses mycobactéries atypiques qu'avec les bacilles tuberculeux bovins (et humains), l'exposition à une mycobactérie atypique ou *M. avium paratuberculosis* préalable au test se traduira par une réponse en IFN $\gamma$  plus intense à PPDA qu'à PPDB et inversement pour une exposition à une mycobactérie du MTBC (Bénet J.J., 2008).

Néanmoins, il arrive qu'une réponse positive à PPDB s'accompagne d'une réponse positive à PPDA mais généralement de moindre intensité (réaction croisée) dans le cas de double contamination par *M. bovis* et *M. avium* ou par *M. bovis* et une mycobactérie atypique (Wood P.R., Corner L.A. et Plackett P., 1990 ; Wood P.R. et Rothel J.S., 1994).

Comme chaque échantillon est analysé en double, les moyennes des deux valeurs de DO du PBS (*phosphate buffer saline* noté N), de PPDB et de PPDA sont calculées pour chaque échantillon. Ainsi, un échantillon est considéré comme positif lorsque la valeur de DO obtenue à l'issue du calcul « DOPPDB – DOPPDA » est supérieure ou égale à 0,1 et que la valeur de DO obtenue à l'issue du calcul « DOPPDB – DON » est supérieure ou égale à 0,1 (Wood P.R. and Rothel J.S., 1994). Un résultat positif à ce test indique donc la présence d'une infection à *M. bovis* chez l'animal testé.

#### Interprétation des résultats

DOPPDB – DOPPDA  $\geq$  0,1 et DOPPDB – DON  $\geq$  0,1 POSITIF

DOPPDB – DOPPDA < 0,1 NEGATIF

DOPPDB – DON < 0,1 NEGATIF

Modalités d'interprétation des résultats obtenus dans le cadre de la lecture standardisée du test à l'interféron gamma :

Résultats individuels		Résultat final du test
PPD A+B	CFP10 + ESAT 6	
Négatif	Négatif	Négatif
Positif	Positif	Positif
Positif	Négatif	Divergent
Négatif	Positif	
« Témoin » ne réagit pas		Ininterprétable
« Témoin » réagit trop		



## Annexe 5 : Localisation des cantons appartenant à la « zone rouge » en Côte d'Or

