IDENTIFICATION DE FACTEURS DE RISQUE DE TUBERCULOSE BOVINE : APPORT DE L'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE*

Marie-France Humblet[1], **Marius Gilbert**[2], **Karl Walravens**[3], **Maryse Fauville-Dufaux**[4], **Marc Govaerts**[3] et **Claude Saegerman**[1]

RESUME

Les objectifs de cette étude étaient d'élaborer un modèle d'analyse de la dynamique spatio-temporelle de la tuberculose bovine (TBb) en vue de suggérer une éventuelle ré-orientation des mesures de surveillance. Une base de données reprenant les souches de *Mycobacterium bovis* isolées entre 1995 et 2006 a été élaborée reprenant les profils moléculaires de trois techniques de typage. La classification des souches de *M. bovis* a permis d'identifier une lignée prédominante en Belgique. Plusieurs paramètres ou facteurs de risque potentiels (n = 49) ont été testés au moyen d'une régression logistique multiple à étapes. Deux approches ont été suivies : la première a considéré toutes les souches de *M. bovis* dans l'application du modèle, tandis que seule la lignée prédominante a été incluse dans la seconde approche. L'inclusion de toutes les souches a permis d'identifier un antécédent de TBb dans un troupeau ($P < 0,001$), la distance par rapport à un foyer (effet voisinage) ($P < 0,001$) et la densité de bovins ($P < 0,001$) comme étant des facteurs de risque de tuberculose bovine. La seconde approche a mis en évidence la proportion de mouvements à partir d'une zone infectée au cours de l'année comme principal facteur de risque de TBb ($P = 0,007$). La présente étude a donc permis d'identifier plusieurs facteurs de risque de TBb en Belgique grâce à une méthodologie originale. De plus, l'exploitation des données de typage moléculaire semble utile pour mettre en évidence des différences de comportement entre souches de *Mycobacterium bovis*.

Mots-clés : tuberculose bovine, *Mycobacterium bovis*, facteurs de risque, épidémiologie moléculaire, modélisation, biologie moléculaire.

…/..

* Texte de la communication orale présentée lors des journées scientifiques AEEMA, 21 mai 2010

[1] Unité de recherche en épidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, B42, Boulevard de Colonster 20, B-4000 Liège, Belgique ; claude.saegerman@ulg.ac.be

[2] Unité de lutte biologique et écologie spatiale, LUBIES, Université Libre de Bruxelles, Université Libre de Bruxelles, avenue F.D. Roosevelt 50, B-1050 Bruxelles, Belgique

[3] Direction opérationnelle maladies bactériennes, Centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimiques, CERVA, 99 Groeselenberg, B-1180 Bruxelles, Belgique

[4] Division tuberculose et mycobactéries, Département des maladies infectieuses et transmissibles, Institut scientifique de santé publique, Service public fédéral, Santé publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et environnement, rue Juliette Wytsman 14, B-1050 Bruxelles, Belgique

…/..

SUMMARY

This study was designed to develop a model of analysis of space-time dynamics in bovine tuberculosis (bTB) possibly leading to a re-orientation of surveillance measures. A database compiling *Mycobacterium bovis* strains isolated between 1995 and 2006 was elaborated based on three molecular typing techniques. The classification of *M. bovis* strains allowed the identification of one predominant strain in Belgium. Several parameters or potential risk factors (n = 49) were tested using a multiple stepwise logistic regression. Two approaches were followed: the first considered all *M. bovis* strains (« All strains model ») whilst only the predominant lineage was included in the second approach (« Main strain model »). The All strains model identified the history of bTB in the herd ($P < 0.001$), the distance to a bTB outbreak (neighouring effect) ($P < 0.001$) and cattle density ($P < 0.001$) as risk factors for bTB. The Main strain model highlighted the proportion of movements from an infected area during the current year as a major risk factor for bTB ($P = 0.007$). The present study allowed identifying several risk factors for bTB in Belgium thanks to an original methodology. Furthermore, the use of molecular biology seems useful to highlight differences in behaviour between *M. bovis* strains.

Keywords: Bovine tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, Risk Factors, Molecular Epidemiology, Modeling, Molecular Biology.

I - INTRODUCTION

Malgré l'implémentation de plans d'éradication, la situation de la tuberculose bovine (TBb) reste préoccupante au sein de l'Union Européenne. Certains pays font actuellement face à une ré-émergence de la maladie [EFSA, 2006a, 2006b]. Bien que déclarée officiellement indemne de tuberculose bovine (OTF, *Officially tuberculosis free*) en 2003, la Belgique enregistre annuellement entre 5 et 10 foyers [AFSCA, 2009]. De nombreux facteurs de risque de TBb ont été identifiés chez les bovins ; ils incluent une variété de paramètres en relation avec, par exemple, la faune sauvage, les contacts entre animaux, les mouvements, ou la densité d'animaux [Humblet *et al*., 2009]. Comme les programmes de contrôle de la maladie engendrent des coûts économiques considérables, les autorités sanitaires nationales envisagent de réduire les mesures actuelles, par exemple en ne rendant plus obligatoire les tuberculinations à l'achat et en réduisant le nombre et la fréquence des tuberculinations de troupeau. Néanmoins, un des facteurs de risque majeur de TBb déjà identifié par ailleurs consiste en les mouvements d'animaux [Gilbert *et al*., 2005 ; Gopal *et al*., 2006]. Avant d'assouplir les mesures de surveillance, il a semblé indispensable d'analyser la dynamique spatio-temporelle de la maladie en Belgique, au cours d'une période relativement longue (1995 à 2006) et d'évaluer les facteurs de risque de la maladie dans le pays. Cette procédure est utile pour les autorités sanitaires dans le but éventuel de réévaluer et d'adapter les mesures de contrôle actuelles pour la surveillance de la TBb et d'évaluer la pertinence d'une éventuelle réduction du nombre et de la fréquence des tuberculinations.

II - MATERIELS ET METHODES

1. BASES DE DONNEES

Une revue exhaustive de la littérature sur les facteurs de risque de TBb [Humblet *et al.*, 2009] a permis d'identifier plusieurs paramètres à tester en tant que facteurs de risque potentiels, appelés prédicteurs. Tous les prédicteurs ont été extraits des bases de données précisées ci-après et compilés en une seule et unique base de données. L'analyse de la dynamique de la TBb a été bidimensionnelle. La référence temporelle était l'année. L'unité spatiale a été définie comme suit : le territoire national a été divisé en cellules de 5 km x 5 km, identifiées grâce aux coordonnées Lambert *x* et *y* de leur centre. Ces cellules ont été dénommées pixels (http://users.skynet.be/belgique/belgica.zip).

Une base de données reprenant tous les isolats de *M. bovis* cultivés à partir d'organes prélevés à la suite d'une suspicion de TBb au Laboratoire national de référence, entre le 1er janvier 1995 et le 31 décembre 2006, était le point de départ de l'analyse. Le typage moléculaire a permis le génotypage individuel de chaque souche. Trois techniques ont été appliquées en parallèle afin d'identifier le type de souche. Celles-ci sont la « RFLP IS*6110* » (*Restriction fragment length polymorphism*, basée sur la séquence d'insertion IS*6110*), le spoligotypage et le typage sur base de VNTRs (*Variable number tandem repeats*) [Walravens *et al*., 2006]. La RFLP IS*6110* améliore le pouvoir discriminatoire du MIRU-VNTR, car 48% des isolats ont montré 8 copies ou plus d'IS*6110* [Allix *et al.,* 2006]. Un type de souche spécifique caractérisée par son spoligotype SB0162 unique a été identifié dans 27% (*N* = 112) de tous les isolats (*N* = 415) (en accord avec la nomenclature internationale: http://www.Mbovis.org/). D'autres bases de données ont été fournies par l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire: la liste de tous les troupeaux de bovins du pays ainsi que leurs inventaires annuels (nombre d'animaux par troupeau au 31 décembre de chaque année). Les données sur les mouvements d'animaux survenus entre 1995 et 2006 ont été extraites du système national d'enregistrement des mouvements (SANITEL). La Division nature et forêts de la Région Wallonne a fourni les données sur plusieurs espèces sauvages. Les populations annuelles estimées de cerfs élaphes (*Cervus elaphus*), chevreuils (*Capreolus capreolus*), sangliers (*Sus scrofa*), daims (*Dama dama*) et mouflons (*Ovis orientalis*) ont été incluses dans le modèle. Les données sur l'occupation du sol ont également été utilisées dans l'analyse : pâturages, cultures, forêts, zones humides, zones urbaines et autres. La longueur des lisières a été utilisée dans le modèle et définie en mètres par pixel. En effet, plus la longueur des lisières augmente, plus le risque d'un contact potentiel entre faune sauvage et bovins domestiques augmente. Des informations sur plusieurs indicateurs bioclimatiques récoltées par télédétection, processus décrit antérieurement par Hay et collaborateurs [2006]), ainsi que l'altitude ont également été incluses dans le modèle.

2. PREDICTEURS

Les différents prédicteurs ont été convertis par pixel, par an, afin d'inclure les variables biologiques, démographiques, climatiques et d'occupation du sol, telles que la distance par rapport à un foyer de TBb, les densités des populations sauvages, les informations éco-climatiques, les mouvements et la densité de bovins. Le prédicteur appelé « persistance de la maladie » (PBTB pour « *persistence of bovine tuberculosis* » ; en d'autres termes, l'antécédent de TBb) a été inclus dans le modèle comme suit : pour chaque pixel et pour chaque année de la période d'intérêt, une note de 1 signifiait la présence et une note de 0 l'absence de TBb l'année antérieure. Si la TBb était présente, le type de souche de *M. bovis* était spécifié. Les populations de bovins ont été converties dans le but d'inclure la « densité de bovins » par pixel et par an dans le modèle. Les données sur les populations d'animaux sauvages étaient disponibles à l'échelle du cantonnement. Elles ont été par la suite transformées et converties à l'échelle du pixel sous la dénomination « densité d'espèces sauvages ». Pour les données d'occupation du sol, les informations incluses dans le modèle étaient les pourcentages d'occupation du pixel par les différents types. Les données brutes extraites de SANITEL ont été préalablement transformées avant leur inclusion dans le modèle, comme suit : chaque mouvement a été référencé par deux données : la première était le pixel de départ du mouvement et la seconde, le pixel d'arrivée du mouvement. Ces deux données ont été rassemblées par paires et couplées à trois variables : le nombre total de mouvements de bovins au sein d'un pixel,

le nombre total de mouvements à partir d'un pixel infecté et la proportion résultante de mouvements à partir d'un pixel infecté. Ces trois variables ont été inclues dans le modèle. Les données de mouvements ont été analysées selon deux approches : la première a évalué l'impact des mouvements enregistrés l'année antérieure à l'occurrence de TBb dans un pixel donné, et la seconde, l'impact des mouvements enregistrés l'année-même d'occurrence de TBb. Un total de 49 prédicteurs a été considéré.

3. ANALYSES STATISTIQUES

Une régression logistique multiple à étapes a permis d'analyser l'association potentielle entre l'occurrence de TBb et les prédicteurs. Ce modèle a été originellement élaboré par Gilbert et collaborateurs pour évaluer l'importance des mouvements d'animaux dans la transmission de la TBb en Grande-Bretagne [Gilbert *et al*., 2005]. Il a été adapté à la situation particulière de la zone d'étude dans le but d'y inclure les aspects de biologie moléculaire. Une base de données unique multi-annuelle comprenant toutes les informations décrites ci-dessus pour les 49 prédicteurs par pixel et par an a été élaborée. Dans un premier temps, les paramètres suivants ont été testés par le modèle : PBTB (statut de TBb l'année antérieure) et la dissémination sur une courte distance (Logtb5km - pixels infectés l'année antérieure dans un rayon de 5 km). Ces deux prédicteurs ont démontré un impact significatif sur la présence de TBb dans le pixel. Par la suite, les autres variables ont été ajoutées dans le modèle au moyen d'une procédure d'entrée standardisée à étapes. Le modèle a été restreint aux prédicteurs ayant présenté le plus haut pouvoir prédictif. En d'autres termes, les meilleurs prédicteurs ont été systématiquement testés avec les autres familles de prédicteurs. Finalement, tous les prédicteurs ayant montré un effet significatif ont été testés simultanément. Les 49 prédicteurs n'ont pas pu être inclus tous ensemble dans le modèle car certains d'entre eux étant corrélés (altitude, densités d'espèces sauvages et forêts), un éventuel effet significatif aurait pu être masqué. Un prédicteur a été considéré comme facteur de risque significatif s'il présentait une relation significative avec la présence de TBb ($P < 0,05$). Le modèle a été appliqué en deux étapes. La première étape consistait à inclure toutes les souches de *M. bovis* identifiées en Belgique au cours de la période d'intérêt. La seconde étape s'est focalisée sur les souches du spoligotype prédominant SB0162 isolées entre 1995 et 2006 [Walravens *et al*., 2006].

L'analyse statistique a été réalisée dans le logiciel R [R development core team].

III - RESULTATS

1. TOUTES LES SOUCHES DE *MYCOBACTERIUM BOVIS*

Les prédicteurs ayant présenté une relation significative sont présentés dans le tableau 1. Deux prédicteurs ont montré une relation significative positive avec la présence de TBb dans un pixel : la persistance de TBb (PBTB) et la densité de bovins (BOV03). La distance par rapport au centre d'un pixel infecté (Logtb5km) a quant à elle présenté une relation négative avec la présence de TBb : plus un troupeau est proche du centre d'un pixel infecté, plus le risque d'être infecté augmente. Ces trois prédicteurs ayant montré le plus haut niveau de significativité ont été testés avec chaque famille de prédicteurs (mouvements, faune sauvage, variables bioclimatiques et occupation du sol) dans une approche sélective rétrograde. A chaque étape, la variable présentant la valeur statistique de Wald la plus basse était écartée. Finalement, tous les prédicteurs ayant présenté une relation significative avec la présence de TBb ont été conservés. Les densités de chevreuils et de cerfs élaphes ainsi que la densité de forêts par pixel ont présenté une relation significativement négative avec la présence de TBb, ce qui suggère qu'à ce jour, aucun réservoir sauvage de TBb n'existe en Belgique. L'approche rétrograde ayant ciblé les prédicteurs bioclimatiques et l'altitude a montré que l'amplitude annuelle de la température moyenne mesurée par infra-rouge présentait une relation significativement positive avec la présence de TBb. Par ailleurs, l'amplitude bi-annuelle de cette température ainsi que l'indice moyen de végétation par différence normalisée et l'altitude ont montré une relation

significativement négative avec la présence de TBb. Une fois toutes les familles de prédicteurs testées séparément avec les trois meilleurs prédicteurs, les variables ayant présenté un effet significatif ont été testées ensemble. Cette ultime étape a mis en évidence la colinéarité de plusieurs prédicteurs, à savoir les densités de cerfs élaphes et de chevreuils, le pourcentage d'occupation du sol par les forêts et l'altitude.

Tableau 1

Prédicteurs ayant un effet significatif
(toutes souches de *Mycobacterium bovis* confondues)

Prédicteur	Estimation	Erreur Standard	Valeur de *Z*	Valeur de *P*	Effet significatif
PBTB	2,0708656	0,2032527	10,189	$< 2^{e-16}$	***
Logtb5km	-2,2286674	0,2306585	-9,662	$< 2^{e-16}$	***
BOV03	0,0002091	0,0000361	5,791	$7{,}01^{e-09}$	***
Densité population cerfs	$-3{,}985^{e-02}$	$1{,}467^{e-02}$	-2,716	0,006617	**
Densité population chevreuils	$-7{,}058^{e-03}$	$2{,}314^{e-03}$	-3,050	0,00229	**
$FORkm^2$	$-9{,}887^{e-02}$	$2{,}613^{e-02}$	-3,784	0,000154	***
Bioclim 1	$4{,}202^{e-02}$	$9{,}909^{e-03}$	4,241	$2{,}23^{e-05}$	***
Bioclim 2	$-2{,}166^{e-02}$	$1{,}001^{e-02}$	-2,164	0,030494	*
Bioclim 3	$-5{,}942^{e-03}$	$1{,}700^{e-03}$	-3,496	0,000472	***
Altitude	$-2{,}204^{e-03}$	$7{,}034^{e-04}$	-3,133	0,001732	**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001; PBTB = persistance de TBb; Logtb5km = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté; BOV03 = densité de population de bovins en 2003; densité de population de chevreuils et de cerfs = par pixel; $FORkm^2$ = surface du pixel occupé par les forêts; Bioclim1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre (°C); Bioclim2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre (°C); Bioclim3 = Indice moyen de végétation par différence normalisée

2. SPOLIGOTYPE PREDOMINANT DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* (SB0162)

Seuls les isolats de *M. bovis* caractérisés en tant que souches du spoligotype SB0162 ont été pris en compte dans cette seconde étape (n = 112) (tableau 2). La persistance de TBb (PBTB) a présenté une relation significativement positive, la distance par rapport au centre d'un pixel infecté (Logtb5km), une relation négative tandis que la densité de bovins n'a montré aucune relation avec la présence de TBb. Seules PBTB et Logtb5km ont, dès lors, été testées avec les autres familles de prédicteurs. Dans cette approche, la proportion de mouvements survenus l'année en cours et ayant pour origine des pixels infectés a présenté une relation positive significative avec la présence de TBb, de même que la surface d'un pixel occupée par les cultures et l'amplitude annuelle de la température moyenne mesurée par infra-rouge. Similairement à l'approche considérant toutes les souches de *M. bovis*, l'amplitude bi-annuelle de la température moyenne mesurée par infra-rouge ainsi que l'indice moyen de végétation par différence normalisée ont montré une relation négative avec l'occurrence de TBb. Une fois les familles de prédicteurs testées séparément, un modèle testant simultanément toutes les variables ayant présenté une relation significative avec la présence de TBb a été étudié. Cette ultime étape a mis en évidence la colinéarité de plusieurs prédicteurs, et seuls la proportion de mouvements survenus l'année en cours et ayant pour origine un pixel infecté (relation positive) et l'amplitude bi-annuelle de la température moyenne mesurée par infra-rouge (relation négative) présentaient encore un effet significatif.

Tableau 2

Prédicteurs ayant un effet significatif
(uniquement la souche de *Mycobacterium bovis* ayant un spoligotype SB0162)

Prédicteur	Estimation	Erreur Standard	Valeur de *Z*	Valeur de *P*	Effet significatif
PBTB	2,0134	0,3923	5,132	$2,86^{e-07}$	***
Logtb5km	-3,2453	0,3537	-9,176	$< 2^{e-16}$	***
Prop_ mov_inf	1,7932	0,6607	2,714	0,00665	**
Densité chevreuils	-0,010778	0,004339	-2,484	0,013	*
$CROPkm^2$	0,08612	0,02782	3,096	0,001961	**
Bioclim 1	0,053690	0,018834	2,851	0,00436	**
Bioclim 2	-0,059615	0,022151	-2,691	0,00712	**
Bioclim 3	-0,009562	0,003118	-3,067	0,00216	**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001; PBTB = persistance de TBb; Logtb5km = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté; Prop_mov_inf = proportion de mouvements à partir de pixels infectés; densité de population de chevreuils = par pixel; $CROPkm^2$ = surface du pixel occupée par les cultures; Bioclim1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre (°C); Bioclim2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre (°C); Bioclim3 = Indice moyen de végétation par différence normalisée.

IV - DISCUSSION

Ce modèle a permis de mettre en évidence l'existence de plusieurs facteurs corrélés avec la présence de TBb au niveau national (Belgique). Il s'agit de la première étude de ce genre réalisée dans le pays. Une première approche a considéré toutes les souches isolées entre 1995 et 2006 tandis qu'une seconde approche a ciblé le type de souche prédominant, à savoir le spoligotype SB0162, le plus souvent isolé en Belgique au cours des 13 dernières années [Walravens *et al*.,2006].

Un antécédent de TBb dans un pixel donné s'est avéré être un facteur de risque significatif, et ce, quelle que soit l'approche. Cette observation confirme les résultats obtenus dans d'autres études menées ailleurs. En effet, des scientifiques britanniques ont démontré que les foyers de TBb survenaient généralement et de manière répétée dans les mêmes régions [White et Benhin, 2004]. Deux hypothèses peuvent être émises : soit la source d'infection n'a pas été éliminée, soit des facteurs permanents particuliers rendent ces régions particulièrement propices à la réémergence de TBb.

La proximité d'un foyer s'avère également être un facteur de risque significatif, comme démontré précédemment en République d'Irlande [Griffin *et al*., 1996]. Des scientifiques ont mis en évidence que, dans un court laps de temps, les foyers de TBb affectaient le plus souvent plusieurs troupeaux en même temps plutôt qu'un seul. Il ne faut toutefois pas écarter l'hypothèse qu'une source commune d'infection peut être responsable de la présence de TBb dans plusieurs troupeaux adjacents [Denny et Wilesmith, 1999]. Des scientifiques nord-américains ont souligné l'importance des contacts entre animaux au niveau des clôtures (simples) dans la transmission de la maladie entre troupeaux [Kaneene *et al*., 2002].

La densité d'animaux est un facteur de risque significatif pour la présence de TBb en Belgique, si les souches de *M. bovis* sont considérées dans leur ensemble. L'élevage intensif est un risque en lui-même à cause de la proximité des animaux et de l'augmentation des contacts et interactions entre eux qui en découlent. La transmission aérogène de *M. bovis* est en effet la principale voie d'infection chez les bovins [Gannon *et al*., 2007]. L'incidence la plus élevée de la maladie est généralement observée dans les régions où l'élevage intensif est pratiqué [Cosivi *et al*., 1998].

Contrairement à ce qui a déjà été observé en Grande-Bretagne [Gilbert *et al*., 2005], les mouvements d'animaux à partir d'un foyer ne représentent pas un facteur de risque pour la maladie lorsque toutes les souches sont considérées. Une étude ciblant l'analyse des

mouvements de bovins entre 1985 et 2003 au Royaume-Uni, fondée sur le typage moléculaire a mis en évidence que la plupart des foyers rapportés étaient enregistrés dans le Nord-Est de l'Angleterre entre 2002 et 2004 [Gopal *et al*., 2006]. Dans cette étude, les mouvements d'animaux avaient un impact majeur s'ils s'effectuaient à partir d'une zone enzootique vers une zone indemne de la maladie. La seconde approche considérant le spoligotype prédominant SB0162 seul a pu mettre en évidence la proportion de mouvements survenus l'année en cours et depuis un pixel infecté comme un facteur de risque significatif.

En Europe, plusieurs espèces sauvages jouent un rôle important dans la transmission de *M. bovis* aux bovins domestiques. C'est notamment le cas du blaireau [Griffin *et al*., 1993 ; Denny et Wilesmith, 1999], des cervidés [Aranaz *et al*., 1996 ; Zanella *et al*., 2008] et du sanglier [Zanella *et al*., 2008]. Aucune relation n'a pu être mise en évidence entre les densités des populations sauvages et l'occurrence de TBb, ce qui suggère qu'à ce jour, *M. bovis* ne circule pas dans la faune sauvage en Belgique. Par ailleurs, les densités de plusieurs espèces sauvages ont présenté une relation négative significative avec la présence de TBb, similairement au pourcentage des pixels occupés par les forêts : ces variables sont en effet corrélées.

L'analyse du spoligotype SB0162 a permis de mettre en évidence la proportion d'un pixel occupée par les cultures comme étant un facteur de risque. Une hypothèse qui permettrait d'étayer cette observation serait que les exploitations bovines sont concentrées autour des zones de cultures pour l'approvisionnement en fourrages.

Plusieurs facteurs bio-climatiques ont présenté une relation significative avec la présence de TBb. L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre est un risque significatif. Il a été démontré que le climat influençait la survie de *M. bovis* dans l'environnement [Philips *et al.,* 2003]. La durée de survie de *M. bovis* dans l'environnement serait inversement proportionnelle aux températures diurnes moyennes, comme il a été suggéré par le passé en Nouvelle-Zélande [Jackson *et al*. 1995]. Il est généralement reconnu que des températures légèrement supérieures à 0°C et une forte hygrométrie sont favorables à la survie de *M. bovis* [Artois *et al*., 2004], et ces conditions sont fréquentes dans le Nord-Ouest de l'Europe en hiver. Les opinions divergent quant à l'importance de l'environnement dans la survie de *M. bovis*. De plus, beaucoup d'études ciblant les durées de survie de *M. bovis* dans l'environnement ont été réalisées en conditions expérimentales. Il conviendrait dès lors d'approfondir cet aspect de la biologie de l'agent pathogène.

Le risque de TBb semble diminuer lorsque l'altitude augmente. Les régions les plus hautes de Belgique sont localisées dans le sud et l'est, régions dans lesquelles pratiquement aucun foyer n'a été rapporté à ce jour. Cette tendance est à mettre en relation avec les zones forestières pour la plupart localisées dans ces mêmes régions.

V - CONCLUSION

Il s'agit de la première étude ciblant l'analyse des facteurs de risque menée à l'échelon national et combinant trois techniques de typage moléculaire. L'analyse statistique des relations entre les foyers de TBb et les types de souches de *M. bovis* a permis d'identifier plusieurs facteurs de risque de la maladie. Ces observations devraient rappeler l'importance de la vigilance en matière d'enquêtes épidémiologiques et d'éradication des foyers en cours. Les mouvements d'animaux depuis les régions infectées étant à risque pour le spoligotype prédominant SB0162, il est essentiel de contrôler les mouvements. Les tuberculinations à l'achat ne devraient pas être négligées. Même si la faune sauvage ne semble pas représenter un risque à ce jour en Belgique, sa surveillance épidémiologique est cruciale au vu de la situation observée dans certains pays voisins. Il semblerait judicieux d'investiguer davantage les rôles que peuvent jouer l'environnement et le climat dans la persistance de *M. bovis*. De plus, les résultats de cette étude suggèrent une différence de comportement pour les souches du spoligotype SB0162, soulignant l'importance de l'épidémiologie moléculaire dans l'investigation des différences de virulence potentielles entre les souches.

BIBLIOGRAPHIE

AFSCA, Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire - Rapport d'activités annuel – 2008, p.130. http://www.favv-afsca.fgov.be/rapportsannuels/_documents/2009-07-07_RA08_fr.pdf.

Allix C., Walravens K., Saegerman C., Godfroid J., Supply P., Fauville-Dufaux M. - Evaluation of the epidemiological relevance of variable-number tandem-repeat genotyping of *Mycobacterium bovis* and comparison of the method with IS6110 restriction fragment length polymorphism analysis and spoligotyping. *J. Clin. Microbiol*., 2006, **44**, 1951-1962.

Aranaz A., Lichana E., Mateos A., Dominguez L., Vidal D.K., Domingo M., Gonzolez O., Rodriguez-Ferri E.F., Bunschoten A.E., Van Embden J.D., Cousins D. (1996) - Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol*., 1996, **34**, 2734-2740.

Artois M., Loukiadis E., Garin-Bastuji B., Thorel M.F., Hars J. - Infection of wild mammals by *Mycobacterium bovis* – Risk of transmission to domestic cattle (in French). Epidemiol. Bull. Fr. Food Safety Agency, 2004, **13**, 1-3.

Cosivi O., Grange J.M., Daborn C.J., Raviglione M.C., Fujikura T., Cousins D., Robinson R.A., Huchzermeyer H.F.A.K., de Kantor I., Meslin F.X. - Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emer. Infect. Dis*., 1998, **4**, 59-70.

Denny G.O., Wilesmith J.W. - Bovine tuberculosis in Northern Ireland: a case-control study of herd risk factors. *Vet. Rec*., 1999, **144**, 305-310.

European Food Safety Authority. (2006a) - The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *EFSA J*., 2006a, **94**, 136-143. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/DocumentSet/Zoonoses_Report_EU_en_2005.pdf.

European Food Safety Authority. (2006b) - Zoonoses country reports – 2006b. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753816_1178676772406.htm.

Gannon B.W., Hayes C.M., Roe J.M. (2007) - Survival rate of airborne *Mycobacterium bovis*. *Res. Vet. Sci*., 2007, **82**, 169-72.

Gilbert M., Mitchell A., Bourn D., Mawdsley J., Clifton-Hadley R., Wint W. (2005) - Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. *Nature*, 2005, **435**, 491-496.

Gopal R., Goodchild A., Hewinson G., De la Rua-Domenech R., Clifton-Hadley R. (2006) - Introduction of bovine tuberculosis to north-east England by bought- in cattle. *Vet. Rec*., 2006, **159**, 265-271.

Griffin J.M., Martin S.W., Thorburn M.A., Eves J.A., Hammond R.F. (1996) - A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland. *Prev. Vet. Med*., 1996, **27**, 75-87.

Hay S.I., Tatem A.J., Graham A.J., Goetz S.J., Rogers D.J. (2006) - Global environmental data for mapping infectious disease distribution. *Adv. Parasitol*., 2006, **62**, 37-77.

Humblet M.F., Boschiroli M.L., Saegerman C. (2009) - Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Vet. Res*., 2009, **40**, 50.

Jackson R., De Lisle G.W., Morris R.S. - A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand. *N. Z. Vet. J*., 1995, **43**, 346-352.

Kaneene J.B., Bruning-Fann C.S., Granger L.M., Miller R., Porter-Spalding A. - Environmental and farm management factors associated with tuberculosis on cattle farms in northeastern Michigan. *JAVMA*, 2002, **221**, 837-842.

Phillip, C.J.C., Foster C.R.W., Morris P.A., Teverson R. (2003) - The transmission of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Res. Vet. Sci*., 2003, **74**, 1-15.

R Development Core Team. - R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2010, ISBN 3-90005-07-0. http://www.R-project.org

Walravens K., Allix C., Supply P., Rigouts L., Godfroid J., Govaerts M., Portaels F., Dufey J., Vanholme L., Fauville-Dufaux M., Saegerman C. (2006) - Ten years of bovine tuberculosis molecular epidemiology in Belgium. *Epidemiol. et santé anim*., 2006, **49**, 103-111.

White P.C.L., Benhin J.K.A. - Factors influencing the incidence and scale of bovine tuberculosis in cattle in southwest England. *Prev. Vet. Med*., 2004, **63**, 1-7.

Zanella G., Durand B., Hars J., Moutou F., Garin-Bastuji B., Duvauchelle A., Fermé M., Karoui C., Boschiroli M.L. - *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *J. Wildl. Dis*., 2008, **44**, 99-108.

Remerciements

Cette étude a été financée par le Service public fédéral, Santé publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et environnement (convention RF 6182). Nous remercions pour leur précieuse collaboration, les inspecteurs vétérinaires des différentes Unités provinciales de contrôle (AFSCA, Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire) ainsi que les vétérinaires responsables administratifs des différents abattoirs visités dans le cadre de la collecte des données. Un grand merci à Mr Jean-Marie Robijns (AFSCA), Mme Valérie Duran (Division nature et forêts) et Mr Jim Casaer (INBO) pour les données fournies dans le cadre du projet.