

LA TUBERCULOSE BOVINE CHEZ LE BLAIREAU (*MELES MELES*) EN FRANCE*

Ariane Payne^{1,2,4}, Maria Laura Boschioli³, Eric Gueneau⁵, Jean Louis Moyen⁶,
Thomas Rambaud⁷, Barbara Dufour⁴, Emmanuelle Gilot-Fromont² et Jean Hars¹

RÉSUMÉ

La Seine-Maritime, la Côte-d'Or et la région Dordogne/Charente sont les départements où les prévalences en tuberculose bovine (TB) sont les plus élevées chez les bovins ou dans la faune sauvage en France. Dans ces zones, des enquêtes ont été mises en place dans l'objectif de détecter la présence de TB chez le blaireau, espèce reconnue comme réservoir de l'infection dans les îles britanniques. La nécropsie réalisée sur 1 599 blaireaux a révélé une prévalence lésionnelle significativement plus élevée en Dordogne/Charente (14/293, 4,8%) qu'en Côte-d'Or (20/1146, 1,7%) et en Seine-Maritime (2/160, 1,25%). En Seine-Maritime, *M. bovis* a été isolé par culture sur un seul blaireau parmi les 103 analysés. Autour des foyers bovins, la prévalence obtenue par PCR s'élève à 29/218 (13,3%) en Dordogne/Charente et à 45/878 (5,1%) en Côte-d'Or. Dans ce même département, la prévalence par culture est de 49/878 (5,6%). Tous les blaireaux infectés ont été trouvés en zone d'infection bovine et les souches isolées sont les mêmes que celles identifiées chez les bovins à proximité. Ces résultats montrent que le blaireau participe au système multi-hôtes de *M. bovis* en France, son rôle épidémiologique exact restant à déterminer.

Mots-clés : blaireau (*Meles meles*), tuberculose bovine, France, épidémiologie.

SUMMARY

Seine-Maritime, Côte-d'Or and Dordogne/Charente are areas of high prevalence of bovine tuberculosis (bTB) in cattle or wildlife. In these areas, surveys have been carried out to monitor the presence of bTB in badgers, a species considered as a bTB maintenance host in British Islands. Post-mortem examination of 1599 trapped badgers revealed a frequency of visible lesions higher in Dordogne/Charente (14/283, 4.9%) than in Côte-d'Or (19/1146, 1.7%) and Seine-Maritime (2/160, 1.25%). In Seine-Maritime, *M. bovis* was isolated by culture in one badger out of 103. In sampling areas around infected cattle farms, 29/218 (13.3%) badgers were found positive by PCR in Dordogne/Charente, 45/878 (5.1%) by PCR and 49/878 (5.6%) by culture in Côte-d'Or. All *M. bovis* strains isolated from badgers were of the same genotype as those isolated from cattle in the vicinity. These results identify badgers as a wild-living host for *M. bovis*, its precise epidemiological role remains to be determined.

Keywords: Badger (*Meles meles*), Bovine tuberculosis, France, Epidemiology.



* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 1^{er} juin 2012

¹ Unité sanitaire de la faune, Direction des études et de la recherche, Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), Gières, France

² Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558 Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, Villeurbanne, France

³ Unité des zoonoses bactériennes, laboratoire de santé animale LERPAZ, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de la santé et du travail (Anses), Maisons-Alfort, France

⁴ Unité EPIMAI, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), USC Anses, Maisons-Alfort, France

⁵ Laboratoire départemental de la Côte-d'Or, 2 ter rue Hoche, 21017 Dijon, France

⁶ Laboratoire départemental d'analyse et de recherche de Dordogne, Coulounieix-Chamiers, France

⁷ Laboratoire agro-vétérinaire départemental de Seine-Maritime, Rouen, France

I - INTRODUCTION

La tuberculose bovine (TB) est une maladie cosmopolite causée par *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), une bactérie appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Cet agent multi-hôtes a pour réservoir originel les bovins mais peut être transmis à de nombreux mammifères, y compris l'homme. L'établissement de réservoirs de *M. bovis* dans la faune sauvage peut menacer le statut du cheptel bovin par transmission retour de l'infection et ainsi être un frein à l'éradication de la TB chez les bovins [Phillips *et al.*, 2003]

En 2001, la France a été reconnue « indemne de tuberculose bovine » au plan européen. Cependant, depuis 2004, on assiste à une recrudescence du nombre de foyers de tuberculose bovine détectés principalement dans quelques départements (Côte-d'Or, Dordogne, Charente, Pyrénées-Atlantiques et Corse) (figure 1).

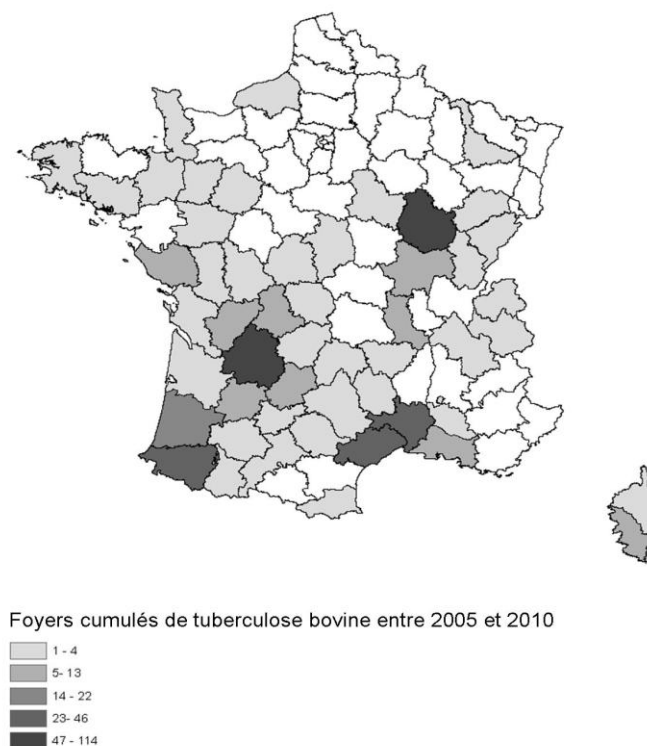
Parallèlement, les premiers cas de d'infection par *M. bovis* dans la faune sauvage en France

ont été détectés en 2001 dans la forêt de Brotonne chez le cerf, considéré alors comme réservoir primaire et le sanglier, considéré comme réservoir secondaire [Zanella *et al.*, 2008b]. En 2003, un cerf infecté a été trouvé en Côte-d'Or et depuis 2007, des cas groupés de sangliers sont régulièrement recensés dans ce département. Ailleurs en France, des cas sporadiques d'infection par *M. bovis* chez le sanglier sont détectés, attestant d'une persistance de l'infection chez les bovins ou dans l'environnement [Hars *et al.*, 2010].

Au Royaume-Uni (RU) et en Irlande, le blaireau européen (*Meles meles*) est considéré comme un réservoir sauvage de *M. bovis*, capable de transmettre l'infection aux bovins [Bourne *et al.*, 2007 ; Murphy *et al.*, 2010 ; Corner *et al.*, 2011]. En Espagne, l'infection par *M. bovis* chez le blaireau est signalée depuis 2008 mais l'épidémiologie de la maladie chez cette espèce est mal connue [Sobrino *et al.*, 2008 ; Balseiro *et al.*, 2011].

Figure 1

Répartition des foyers de tuberculose bovine par département en France entre 2005 et 2010
(source DGAL)



L'objectif de cette étude était de détecter la présence de *M. bovis* chez le blaireau dans les zones où la prévalence chez les bovins et dans la faune sauvage est (ou a été) la plus élevée en France. Des enquêtes ont ainsi été

conduites en Seine-Maritime, Côte-d'Or et Dordogne/Charente. La prévalence de *M. bovis* chez le blaireau, les aspects lésionnels et le lien phylogénique avec les bovins ont aussi été recherchés.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. ÉCHANTILLONNAGE

Les enquêtes ont été conduites par les services vétérinaires de chaque département. La grande majorité (95%) des blaireaux analysés ont été piégés par des piègeurs agréés dans le cadre d'arrêtés préfectoraux autorisant leur piégeage, 4% ont été tirés ou déterrés et 1% proviennent de collision routière.

En Seine-Maritime, les blaireaux ont été prélevés depuis 2001 dans la forêt de Brotonne (82 km²), dans laquelle 222/1 263 sangliers et 74/457 cerfs ont été trouvés infectés depuis cette date. Autour de cette forêt, le dernier foyer bovin remonte à 2006. La taille de l'échantillon a varié de 15 à 55 blaireaux par an (sauf en 2007 et 2008 où aucun blaireau n'a été analysé) pour un total de 160 blaireaux analysés.

En Côte-d'Or, entre 2005 et 2010, 97 foyers bovins ont été enregistrés. En 2010, un pic de TB a été rapporté avec une incidence de 43 nouveaux foyers (source : DGAL). Les blaireaux ont été capturés depuis 2009 dans un rayon de 1 km autour des exploitations infectées, ce qui représente une zone coalescente d'environ 2 000 km². En deux ans, parmi les blaireaux piégés dans cette zone, 878 blaireaux ont pu être analysés.

En Dordogne, où 114 foyers ont été enregistrés entre 2005 et 2010 (Source : DGAL), les blaireaux sont piégés depuis 2010 dans un rayon de 1 à 2 km autour des exploitations infectées, correspondant au total à une surface de 1 600 km² répartie sur le département. En Charente, en zone frontalière avec la Dordogne, 19 blaireaux ont été piégés en 2010-2011 dans un rayon de 3 km autour de fermes récemment infectées. Ces blaireaux ont été inclus dans le même échantillon que ceux de Dordogne étant donnée la proximité des deux zones et parce que les blaireaux ont été analysés dans le même laboratoire. Au total, pour ces deux départements la taille de l'échantillon est de 218 blaireaux.

En Côte-d'Or et en Dordogne, deux échantillons de 268 et 65 blaireaux respectivement ont également été analysés dans des zones indemnes de tuberculose bovine dans le but de surveiller la propagation éventuelle de l'infection chez le blaireau (tableau 1).

Cet article présente les données obtenues jusqu'à juin 2011.

2. MÉTHODES DIAGNOSTIQUES

Les laboratoires départementaux locaux ont réalisé la nécropsie, la PCR et la culture. Cependant, les protocoles n'ont pas été standardisés entre les départements.

Lorsque des mycobactéries étaient isolées par culture, la souche était envoyée au laboratoire national de référence (Anses Maisons-Alfort) afin d'identifier l'espèce. Lorsqu'il s'agissait de *M. bovis*, la souche était caractérisée génétiquement (voir § 2-5).

2.1. NÉCROPSIES

Après ouverture de la carcasse, l'examen des tissus s'est focalisé sur les nœuds lymphatiques (céphaliques, thoraciques, mésentériques et périphériques) ainsi que sur les organes thoraciques et abdominaux. Chaque nœud lymphatique a été incisé pour un examen interne. Des incisions ont également été pratiquées dans le poumon, le foie et les reins. Le médiastin, la plèvre et le péricarde ont également été inspectés.

Toutes les lésions visibles ont été décrites et seules les lésions évocatrices de tuberculose ont été retenues dans notre analyse.

2.2. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS POUR LA PCR ET LA CULTURE

Selon les départements, les PCR et les cultures ont été réalisées sur des pools de

nœuds lymphatiques ou sur chaque nœud lymphatique prélevé. Si une lésion était observée sur un autre organe, elle était analysée séparément (tableau 1).

Afin de préparer l'échantillon analysé par PCR ou par culture, 2 à 5g de tissu prélevés ont été mélangés avec une solution à 4% de H₂SO₄, pendant 10 minutes puis neutralisés avec une solution de soude à 6%, afin de décontaminer le tissu. Si le prélèvement était trop dégradé, le temps de contact avec la solution de H₂SO₄ était étendu à 20 minutes afin de diminuer son taux de contamination.

2.3. PCR

Les PCR ont été réalisées en utilisant un coffret commercial (LSI taqvet *Mycobacterium tuberculosis* complex 2 wells), ciblant la séquence IS 6110, présente chez toutes les espèces du complexe *M. tuberculosis* et dont la spécificité a été validée chez les bovins.

2.4. CULTURE

Les laboratoires départementaux ont suivi le protocole établi par le laboratoire national de référence (NF U 47-104) pour l'isolement de *M. bovis*.

Après décontamination (voir paragraphe 2-2), le surnageant a été ensemencé sur deux milieux différents, Löwenstein-Jensen et Colestos. Les milieux ont été incubés à 37°C +/- 3°C pendant trois mois et examinés toutes les deux semaines.

En Seine-Maritime, les cultures n'ont été réalisées que si des lésions visibles étaient observées, sauf en 2006 et en 2011, où tous les blaireaux échantillonnés ont été analysés. En Côte-d'Or, PCR et cultures étaient faites

systématiquement sur tous les blaireaux. Enfin, en Dordogne/Charente, seuls les échantillons de blaireaux ayant un résultat positif en PCR ont été mis en culture (tableau 1).

2.5. TYPAGE DES SOUCHES

Les souches ont été génotypées au moyen de deux techniques: le spoligotypage et l'analyse VNTR.

Le protocole suivi pour le spoligotypage est celui développé par Kamerbeek *et al.* [1997]. L'analyse des profils VNTR, fondée sur l'amplification par PCR de séquences répétées sur certains locus permet d'avoir des marqueurs génétiques très spécifiques des différentes souches [Skuce *et al.*, 2005]. Les locus utilisés ont été les suivants : 2165 (ETR A), 2461 (ETR B), 577 (ETR C), 580 (ETR D), 2163 a (11a), 2163 b (11b), 3232 et 4052 (QUB26). Elle est considérée comme la méthode la plus discriminante pour différencier les souches de *M. bovis* [Roring *et al.*, 2002 ; Zanella *et al.*, 2008a].

2.6. ANALYSE STATISTIQUE

Les proportions de blaireaux porteurs de lésions visibles ou ayant un résultat positif en PCR ou en culture ont été calculées avec leur intervalle de confiance à 95%.

Les valeurs des kappa de Cohen ont été déterminées afin d'estimer la concordance entre les résultats obtenus par PCR et ceux obtenus par culture. Cela fut uniquement possible en Côte-d'Or où les deux méthodes étaient systématiquement réalisées sur le même échantillon. Le logiciel R (2.9.1 version) a été utilisé pour l'analyse des données.

Tableau 1

Tailles d'échantillon et méthodes de diagnostic utilisées dans la surveillance de l'infection par *M. bovis* chez le blaireau dans différentes régions en France

	Période d'enquête	Nb analysés en zone infectée	Nb analysés en zone non infectée	Nécropsie	PCR	Culture
Seine-Maritime	2001-2011	160	0	Oui	Non	Oui, lorsque des lésions visibles étaient observées ^a
Côte-d'Or	2009-2011	878	268	Oui	Oui, systématiquement sur un pool de nœuds lymphatiques ^b	Oui, systématiquement sur un pool de nœuds lymphatiques ^b
Dordogne/Charente	2010-2011	218	65	Oui	Oui, systématiquement sur un pool de nœuds lymphatiques ^c	Uniquement lorsque les PCR étaient positives sur un pool de nœuds lymphatiques ^c

^a Les cultures n'ont été réalisées que lorsque des lésions macroscopiques étaient observées à l'autopsie sauf en 2006 et en 2011 où tous les blaireaux ont fait l'objet d'analyses en culture. Les échantillons ont été prélevés sur le tissu lésé, les nœuds lymphatiques (NL) rétropharyngiens, médiastinaux, trachéaux et mésentériques, ainsi que sur les poumons et ont été cultivés séparément jusqu'en 2009. A partir de 2010, les cultures ont été réalisées sur un pool de NL rétropharyngiens, bronchiques, médiastinaux et mésentériques.

^b Le pool était constitué des NL sous-maxillaires, rétropharyngiens, bronchiques et médiastinaux.

^c Le pool était constitué des NL sous-maxillaires, rétropharyngiens, bronchiques, médiastinaux, mésentériques et préscapulaires.

III - RÉSULTATS

1. LÉSIONS

Seuls 35 blaireaux sur 1 589 (2,2%) ont présenté des lésions visibles. La fréquence des lésions macroscopiques est significativement plus élevée en Dordogne/Charente (4,9%) que dans les autres départements enquêtés (1,25 à 1,7%) (test exact de Fisher, $p < 0,001$).

La plupart des lésions étaient localisées dans les nœuds lymphatiques céphaliques et thoraciques et présentaient des nodules caséux et/ou calcifiés. En Côte-d'Or, une lésion de la glande salivaire a été observée chez un blaireau avec modification de la consistance de la glande et présence de minéralisation. En Dordogne/Charente, deux blaireaux ont présenté des lésions miliaires sur les poumons et un blaireau a présenté des lésions de tuberculose généralisée avec des tubercules pulmonaires purulents et des lésions caséuses dans les nœuds lymphatiques rétropharyngiens, thoraciques et mésentériques.

2. PRÉVALENCE RÉGIONALE

En Côte-d'Or comme en Dordogne/Charente, tous les blaireaux analysés hors de la zone d'infection bovine se sont révélés négatifs (en Seine-Maritime, il n'y a pas eu d'enquête en dehors de la forêt de Brotonne).

Les résultats de PCR ont révélé une prévalence en zone d'infection bovine de 13,3% en Dordogne/Charente, significativement plus élevée qu'en Côte-d'Or où elle s'élève à 5,1% (test exact de Fisher, $p < 0,001$).

Pour les résultats de culture en zone d'infection, la prévalence tend à être plus élevée en Côte-d'Or (5,6%) qu'en Seine-Maritime (0,97% ; test exact de Fisher, $p = 0,053$). En Dordogne/Charente, seuls les échantillons avec un résultat positif en PCR ont été mis en culture ; de ce fait, aucune prévalence n'a pu être calculée pour les résultats de culture (tableau 2).

3. TYPAGE DES SOUCHES

SB0134 est le spoligotype de *M. bovis* identifié en Seine-Maritime et dans le sud de la Côte-d'Or alors que c'est le spoligotype SB0120 en Dordogne/Charente et dans le nord de la Côte-d'Or. Les profils VNTR ont permis une meilleure discrimination génotypique des souches de *M. bovis* (tableau 2). La comparaison de ces profils à ceux identifiés chez les bovins infectés (Source Anses Maisons-Alfort) a révélé que blaireaux et bovins infectés sur un même secteur étaient porteurs d'une souche identique de *M. bovis*.

4. CONCORDANCE DES MÉTHODES DE DIAGNOSTIC

Le calcul du kappa de Cohen pour les résultats de tous les blaireaux de la zone infectée de Côte-d'Or a révélé une concordance modérée (0,44) entre la PCR et la culture. En revanche, cette concordance est bien meilleure (0,78) lorsque seuls les blaireaux présentant des lésions macroscopiques ont été pris en compte (tableau 3).

Tableau 2

Proportion des blaireaux avec des lésions visibles et donnant une réponse positive pour *M. bovis* par PCR et par culture dans les différentes régions où la surveillance a été mise en œuvre
(les pourcentages sont présentés avec l'intervalle de confiance (IC) à 95%)

	Nb de blaireaux avec lésions visibles/Nb de analysés (%; [95% IC])	Nb de positifs par PCR/Nb analysés (%, [95% IC])	Nb de positifs par culture/Nb analysés (%, [95% IC])	Spoligotypes/profils VNTR
Seine-Maritime	2/160 (1,25%; [0,15-4,4%])		1/103 (0,97%; [0,02-5,3%])	SB 0134 / 7 4 5 3 10 4 5 10
Côte-d'Or				
Zone infectée	17/878 (1,9%; [1,1-3,1%])	45/878 (5,1%; [3,8-6,8%])	49/878 (5,6%; [4,1-7,3%])	SB 0134 / 6 4 5 3 6 4 3 6 SB 0120 / 5 5 4 3 11 4 5 6
Zone non infectée	2/268 (0,75%; [0,1-2,7%])	0/268 (0%; [0-1,4%])	0/268 (0%; [0-1,4%])	
Total	19/1 146 (1,7%; [1,0-2,6%])	45/1 146 (3,9%; [2,9-5,2%])	49/1 146 (4,3%; [3,2-5,6%])	
Dordogne/Charente				
Zone infectée	14/218 (6,4%; [3,5-10,5%])	29/218 (13,3%; [9,1-18,5%])	13/29 ^a	SB 0120 / 5 3 5 3 9 4 5 6
Zone non infectée	0/65 (0%; [0-5,5%])	0/65 (0%; [0-5,5%])		
Total	14/283 (4,9%; [2,7-8,1%])	29/283 (10,2%; [7,0-14,4%])	13/29 ^a	

^a Seuls les blaireaux à résultat positif en PCR ont été analysés par culture ; par conséquent, aucune prévalence n'a pu être calculée.

Tableau 3

Concordance mesurée par le kappa de Cohen entre les résultats obtenus par PCR et par culture en Côte-d'Or (zone infectée uniquement) dans l'échantillon global, puis en ne prenant que les blaireaux présentant des lésions visibles

		Culture positive	Culture négative	Total	Kappa
Tous les blaireaux	PCR positive	22	23	45	0,44
	PCR négative	27	806	833	
	Total	49	829	878	
Blaireaux avec lésions visibles uniquement	PCR positive	6	2	8	0,78
	PCR négative	0	9	9	
	Total	6	11	17	

IV - DISCUSSION

➤ Pour chaque enquête, la méthode d'échantillonnage a été opportuniste, c'est-à-dire dépendante des prises des piègeurs. De ce fait, l'échantillonnage réalisé au sein de chaque zone (infectée ou indemne de tuberculose) n'a pas été aléatoire. Certains territoires ont pu être sous- ou sur-représentés, selon le nombre de piègeurs présents et l'intensité de leur activité. Cela a très probablement biaisé les résultats de prévalence, mais il est difficile de savoir dans quel sens.

Les durées pendant lesquelles les enquêtes ont été conduites ont été très variables entre la Seine-Maritime, d'une part (10 années de surveillance avec une petite taille d'échantillon chaque année) et la Côte-d'Or et la Dordogne/Charente, d'autre part (un ou deux ans de surveillance avec des tailles d'échantillon plus importantes). Cet écart doit conduire à comparer les résultats obtenus dans ces différentes régions avec prudence.

Pour l'examen post mortem, il a été montré que le temps et le détail de l'autopsie influençaient la détection des lésions macroscopiques. Ainsi, la détection des lésions macroscopiques, par un protocole standard (moins de 30 minutes par carcasse en se focalisant sur certains tissus) a une faible sensibilité comparée à la prévalence déterminée par culture ou histopathologie [Crashaw *et al.*, 2008 ; Jenkins *et al.*, 2008 ; Corner *et al.*, 2011]. Or, au cours de cette étude, le temps alloué à chaque autopsie était inférieur à 30 minutes, ce qui a pu peut-être conduire à une sous-estimation de la

fréquence des lésions. De plus, le dépistage des blaireaux infectés fondé uniquement sur l'autopsie, comme cela était pratiqué en Seine-Maritime certaines années de surveillance, a pu conduire à une sous-estimation de la prévalence réelle de *M. bovis* dans la forêt de Brotonne (cependant, le protocole incluant la culture a concerné plus de 60% des blaireaux analysés).

Pour la PCR et la culture, leur sensibilité dépend probablement de la concentration de bacilles dans le tissu prélevé pour l'analyse. Or, la concentration en *M. bovis* dans un tissu infecté peut varier de une à deux colonies formant une unité (cfu)/g lorsque l'infection est latente à plus de 10^5 cfu/g dans les tissus et exsudats d'un blaireau en phase terminale de la maladie [Corner *et al.*, 2011]. Chez les blaireaux ne montrant pas de lésions visibles, les analyses ont été réalisées sur pool de 5g de nœuds lymphatiques. Cette dilution de la concentration en bactéries a pu engendrer une diminution de la sensibilité de la PCR et de la culture. Cela peut aussi expliquer la mauvaise concordance observée entre PCR et culture en Côte-d'Or car la probabilité d'avoir assez de bacilles pouvant donner des résultats positifs à la fois par PCR et par culture est alors moindre. Au contraire, les performances de la PCR et de la culture sont améliorées lorsque les blaireaux sont à un stade plus avancé de l'infection, et que les bacilles sont beaucoup plus nombreux et disséminés dans les tissus. Ainsi, la meilleure concordance observée chez les blaireaux présentant des lésions macroscopiques est probablement due au fait que les tissus lésés analysés avaient une

charge bacillaire plus élevée que les tissus non lésés. En conséquence, la sensibilité des analyses PCR et bactériologiques réalisées en Dordogne/Charente était sans doute meilleure car les analyses ont été réalisées sur une population de blaireaux présentant plus de lésions macroscopiques.

Dans une étude testant les performances de la PCR utilisant la même séquence cible que notre présente étude, sur des espèces sauvages (cerfs, chevreuils, sangliers et blaireaux), la sensibilité et la spécificité, comparées à la culture ont été évaluées respectivement à 81,5% et 98,1% [Hénault *et al.*, 2006]. Les caractéristiques de la PCR utilisée ici sont probablement proches mais elles ne sont pas connues. De plus, bien que la spécificité soit excellente pour les mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*, des résultats faussement positifs peuvent survenir en cas d'infection à *M. microti*. Cette possibilité est probablement minoritaire puisqu'aucune PCR positive n'a été obtenue loin des fermes infectées, contrairement à ce qui serait attendue avec une forte présence de *M. microti*. Cependant, afin d'éviter cette possibilité, des cibles génétiques plus spécifiques doivent être recherchées. La PCR a l'avantage d'être un outil de diagnostic rapide mais la culture reste le test de référence pour le diagnostic de *M. bovis* [Pritchard *et al.*, 1986 ; Hénault *et al.*, 2006 ; Zanella *et al.*, 2008a ; Collins 2010].

➤ Nos résultats suggèrent que chez les animaux infectés, les lésions macroscopiques sont plus fréquentes en Dordogne/Charente qu'en Côte-d'Or. Les résultats de la PCR réalisée avec le même coffret (mais pas exactement sur le même pool de nœuds lymphatiques) ont révélé une prévalence plus élevée en Dordogne/Charente qu'en Côte-d'Or. On constate ainsi qu'en zone d'infection bovine, la fréquence des lésions et la prévalence d'infection à *M. bovis* sont plus élevées en Dordogne/Charente qu'en Côte-d'Or. Cela pourrait indiquer une différence dans la dynamique de transmission entre les deux régions avec une infection plus ancienne des blaireaux en Dordogne/Charente. Cependant, étant donné le manque de standardisation dans les protocoles entre les deux départements on ne peut pas exclure un effet d'une variation des sensibilités de détection entre laboratoires. Ces résultats devraient être confirmés en utilisant un protocole standardisé pour l'échantillonnage et les méthodes diagnostiques.

Tous les blaireaux trouvés tuberculeux ont été échantillonnés dans un rayon d'au plus 3 km autour d'exploitations bovines infectées. De ce fait, les proportions d'animaux à lésion ainsi que les valeurs de prévalence trouvées ne peuvent être inférées qu'aux populations de blaireaux vivant en zones d'infection bovine pour la Côte-d'Or et la Dordogne/Charente et à la forêt de Brotonne (zone d'infection du gibier sauvage) pour la Seine-Maritime.

La proportion de lésions visibles chez les blaireaux infectés est proche de ce qui a été observé au Royaume-Uni où 20% à 40% des blaireaux infectés ont montré des lésions macroscopiques lors d'autopsies pratiquées dans plusieurs comtés dans lesquels l'incidence de l'infection par *M. bovis* est élevée [Gallagher and Clifton-Hadley, 2000 ; Jenkins *et al.*, 2008]. En Irlande, Murphy *et al.* [2010] ont trouvé des lésions visibles chez 12,1% (26/215) des blaireaux analysés provenant d'une large zone couvrant 16 comtés. Ce taux est supérieur aux résultats obtenus ici quelles que soient la région et la zone échantillonnée considérées. Dans le nord de l'Espagne (Asturie et Galice principalement), seul un blaireau sur les 121 analysés a montré une lésion macroscopique sur le nœud lymphatique mésentérique [Balseiro *et al.*, 2011].

Les localisations des lésions sont cohérentes avec les précédentes études conduites au Royaume-Uni et en Irlande, la cavité thoracique (poumon et nœuds lymphatiques) et les nœuds lymphatiques céphaliques étant les sites les plus fréquemment touchés, suivis des nœuds lymphatiques périphériques et de la cavité abdominale (viscères et nœuds lymphatiques mésentériques) [Bourne *et al.*, 2007 ; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000 ; Murphy *et al.*, 2010 ; Jenkins *et al.*, 2008 ; Corner *et al.*, 2011]. Comme en Angleterre et en Irlande, la présence d'une seule lésion visible chez un individu est l'observation la plus fréquente. Un seul blaireau a montré un tableau lésionnel de tuberculose généralisée en Dordogne. Aucune lésion n'a été détectée sur les reins, alors que cela a été rapporté en Angleterre et en Espagne. En revanche, à notre connaissance, c'est la première fois qu'une lésion est décrite sur la glande salivaire [Bourne *et al.*, 2007 ; Gallagher and Clifton-Hadley, 2000 ; Murphy *et al.*, 2010 ; Jenkins *et al.*, 2008 ; Sobrino *et al.*, 2008 ; Balseiro *et al.*, 2011 ; Corner *et al.*, 2011]. Les caractéristiques des lésions sont les mêmes que celles observées au Royaume-Uni et en Espagne bien que la minéralisation semble

être plus fréquente en Espagne qu'au Royaume-Uni [Corner *et al.*, 2011].

La prévalence identifiée par culture au cours du RBCT (randomised badgers culling trial), conduit entre 1998 et 2006 au RU était comprise entre 1,6% et 37,2% avec une moyenne de 16,6% [Bourne *et al.*, 2007]. En Irlande, 19,5% à 26,1% des blaireaux analysés par culture dans quatre zones ont fourni des résultats positifs [Griffin *et al.*, 2005]. Une étude plus récente dans laquelle, par animal, quatre pools anatomiques (tête, thorax, périphérie et abdomen) constitués de nœuds lymphatiques et d'autres organes, étaient analysés par culture a mis en évidence une prévalence de 36,3% [Murphy *et al.*, 2010]. Les prévalences chez le blaireau semblent plus faibles en France qu'au RU ou en Irlande. Il doit toutefois être noté que la prévalence de l'infection chez les bovins au RU et en Irlande est beaucoup plus élevée qu'en France (5-6% vs. 0,04%) et que les blaireaux analysés provenaient tous des zones où la prévalence chez les bovins était la plus élevée [EFSA, 2010].

➤ Afin de vérifier que l'infection ne s'était pas propagée chez les blaireaux en l'absence de foyer bovin à proximité, une surveillance dans les zones non infectées a également été réalisée et aucun blaireau infecté n'a été détecté. Cependant, ce résultat doit être interprété avec prudence en raison de la taille limitée de l'échantillon dans ces zones (tableau 2). De plus, comme mentionné

précédemment, l'échantillonnage réalisé au sein de ces zones indemnes comme au sein des zones infectées n'a pas été aléatoire car dépendant de la présence et de l'activité des piégeurs. Au RU, entre 1972 et 1993, des blaireaux provenant de zones sans infection bovine ont été trouvés infectés. En Irlande, une prévalence d'infection par *M. bovis* de 15% a été estimée dans des zones où aucun foyer bovin n'a été rapporté depuis six ans [ANSES, 2011]. En Espagne, Balseiro *et al.* [2011] ont détecté huit cultures positives sur les 121 blaireaux morts par collision routière analysés. Ils provenaient d'Asturie où la prévalence de TB chez les bovins est comprise entre 0 et 4,3% selon les comtés.

Tous les spoligotypes et les profils VNTR trouvés sont communs aux blaireaux et aux bovins au sein d'un même secteur géographique. Ces résultats attestent du lien épidémiologique entre blaireaux et bovins. Ils suggèrent que les deux espèces appartiennent au même « cluster » d'infection et que *M. bovis* se transmet entre les deux espèces. Les mêmes conclusions ont été tirées en Espagne, au RU, et en Irlande bien que dans ces deux derniers pays, des spoligotypes circulent de façon indépendante chez le blaireau [Balseiro *et al.*, 2011 ; Jenkins *et al.*, 2007 ; Olea-Popelka *et al.*, 2005 ; Woodroffe *et al.*, 2005]. En France, chez les autres espèces sauvages infectées surveillées dans différentes régions, on retrouve également un partage des mêmes souches avec les bovins à proximité [Zanella *et al.*, 2008a ; Richomme *et al.*, 2010 ; Hars *et al.*, 2010 ; Anses, 2011].

V - CONCLUSION

Cette étude a permis d'identifier le blaireau comme hôte sauvage de *M. bovis* en France. Cependant, en se fondant uniquement sur nos résultats il est difficile de déterminer quel est son rôle épidémiologique au sein du système multi-hôtes. De plus, les situations épidémiologiques semblent différer entre les régions étudiées. L'ensemble des résultats issus de ces enquêtes et leur comparaison avec la situation dans les îles britanniques semblent indiquer que le blaireau ne joue pas, dans les régions étudiées, un rôle de réservoir de *M. bovis*. Nous pouvons émettre l'hypothèse que nous assistons à un phénomène émergent et/ou que les conditions ne sont pas réunies dans ces régions pour que

le blaireau puisse tenir ce rôle de réservoir. En effet, en dehors du niveau de prévalence, d'autres paramètres tels que la densité des populations-hôtes sauvages et domestiques, le niveau d'interaction entre ces populations, le paysage doivent également être pris en compte. Des travaux de recherche sont nécessaires pour déterminer ces paramètres et ainsi mieux évaluer le risque de transmission de *M. bovis* entre blaireaux et bovins.

Depuis fin 2011, la surveillance de la tuberculose chez le blaireau est réalisée via le réseau Sylvatub qui permet d'élargir la surveillance au niveau national et de

standardiser les méthodes d'échantillonnage et de diagnostic.

Ainsi, l'amélioration des connaissances globales sur l'épidémiologie de la tuberculose

chez le blaireau et plus largement dans le système multi-hôtes en France permettra de mettre en œuvre des méthodes de lutte efficaces.

BIBLIOGRAPHIE

- Anses - Tuberculose bovine et faune sauvage. Rapport. Edition scientifique Anses Paris, 2011.
<http://www.anses.fr/Documents/SANT2010sa0154Ra.pdf>; Accès le 5 Mai 2011
- Balseiro A., Rodriguez O., Gonzalez-Quiros P. *et al.* - Infection of Eurasian badgers (*Meles meles*) with *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium* complex in Spain. *Vet. J.*, 2011, **190**, 21-25.
- Biet F., Boschirolì M.L., Thorel M.F., Guilloteau L.A. - Zoonotic aspect of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Vet. Res.*, 2005, **36**, 411-436.
- Bourne F.J., Cox D.R., Donnelly C.A., Gettinby G., McInerney J.P., Morrison W.I., Woodroffe R. - Bovine Tuberculosis: the scientific evidence. Final report of the independent scientific group (ISG) on cattle TB. 2007, DEFRA London.
- Collins D.M. - Advances in molecular diagnostics for *Mycobacterium bovis*. *Vet. Microbiol.*, 2011, **151**, 2-7.
- Corner L.A., Murphy D., Gormley E. - Mycobacterial infection in the Eurasian badger (*Meles meles*): the disease, pathogenesis, epidemiology and control. *J. Comp. Pathol.*, 2011, **144**, 1-24.
- Crashaw T.R., Griffiths I.B., Clifton-Hadley M.A. - Comparison of a standard and detailed post mortem protocol for detecting *Mycobacterium bovis* in badgers. *Vet. Rec.*, 2008, **163**, 473-477.
- EFSA - The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA journal*, 2010, **8**, 410p.
- Gallagher J., Clifton-Hadley R.S. - Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. *Res. Vet. Sci.*, 2000, **69**, 203-217.
- Griffin J.M., Williams D.H., Kelly G.E., Clegg T.A., O'Boyle I., Collins J.D. - The impact of badger removal on the control of tuberculosis in cattle herds in Ireland. *Prev. Vet. Med.*, 2005, **67**, 237-66.
- Hars J., Richomme C., Boschirolì M.L. - La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. *Bull. Epid. Hebdo.* Anses, 2010, **38**, 28-31.
- Hénault S., Karoui C., Boschirolì M.L. - A PCR-based method for tuberculosis detection in wildlife. *Dev. Biol. (Basel)*, 2006, **126**, 123-132.
- Jenkins H.E., Woodroffe R., Donnelly C.A. *et al.* - Effects of culling on spatial associations of *Mycobacterium bovis* infections in badgers and cattle. *J. Appl. Ecol.*, 2007, **44**(5), 897-908.
- Jenkins H.E., Morrison W.I., Cox D.R. *et al.* - The prevalence, distribution and severity of detectable pathological lesions in badgers naturally infected with *Mycobacterium bovis*. *Epidemiol. Infect.*, 2008, **136**, 1350-1361.
- Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A. *et al.* - Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 1997, **35**, 907-914.
- Murphy D., Gormley E., Costello E., O'Meara D., Corner L.A. - The prevalence and distribution of *Mycobacterium bovis* infection in European badgers (*Meles meles*) as determined by enhanced post mortem examination and bacteriological culture. *Res. Vet. Sci.* 2010, **88**, 1-5.
- OIE - Bovine tuberculosis Chap 2.4.7. In: OIE (ed) Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees), 6th edn. Paris, 2008, 745-760.

- Olea-Popelka F.J., Flynn O., Costello E. *et al.* - Spatial relationship between *Mycobacterium bovis* strains in cattle and badgers in four areas in Ireland. *Prev. Vet. Med.* 2005, **71**, 57-70.
- Phillips C.J.C., Foster C.R.W., Morris P.A., Teverson R. - The transmission of *Mycobacterium bovis* to cattle. *Res. Vet. Sci.*, 2003, **74**, 1-15.
- Pritchard D.G., Stuart F.A., Wilesmith J.W. *et al.* - Tuberculosis in East Sussex. III. Comparison of post-mortem and clinical methods for the diagnosis of tuberculosis in badgers. *J. Hyg. Camb.*, 1986, **97**, 27-36.
- Richomme C., Boschioli M.L., Hars J., Casabianca F., Ducrot C. - Bovine tuberculosis in livestock and wild boar on the Mediterranean Island, Corsica. *J. Wildl. Dis.*, 2010, **46**, 627-631.
- Roring S., Scott A., Brittain D. *et al.* - Development of Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium bovis*: Comparison of Results with Those Obtained by Using Existing Exact Tandem Repeats and Spoligotyping. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 2126-2133.
- Skuce R.A., McDowell S.W., Mallon T.R. *et al.* - Discrimination of isolates of *Mycobacterium bovis* in Northern Ireland on the basis of variable numbers of tandem repeats (VNTRs). *Vet. Rec.*, 2005, **157**, 501-504.
- Sobrinho R., Vicente J., Aurtenetxe O., Garrido J.M., Gortázar C. - Bovine tuberculosis in a badger (*Meles meles*) in Spain. *Vet. Rec.*, 2008, **163**, 159-160.
- Thierry D., Brisson-Noel A., Levy-Frebault V., Nguyen S., Guesdon J.L., Gicquel B. - Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* sequence, IS6110 and its application in diagnosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 2668-2673.
- Woodroffe R., Donnelly C.A., Johnston W.T., Bourne F.J., Cheeseman C.L., Clifton-Hadley R.S. *et al.* - Spatial association of *Mycobacterium bovis* infection in cattle and badgers *Meles meles*. *J. Appl. Ecol.*, 2005, **42**, 852-862.
- Zanella G., Durand B., Hars J. *et al.* - Tuberculosis in wildlife in France. *J. Wildl. Dis.*, 2008a, **44**, 99-108.
- Zanella G., Duvauchelle A., Hars J., Moutou F., Boschioli M.L., Durand B. - Patterns of bovine tuberculosis lesions in wild red deer and wild boar. *Vet. Rec.*, 2008b, **163**, 43-47.



Remerciements

Les auteurs remercient la Direction générale de l'alimentation pour le financement de ces enquêtes, les Directions départementales de la protection des populations de la Côte-d'Or, de la Dordogne et de la Seine-Maritime ainsi que l'ONCFS pour la mise en œuvre de ces programmes de surveillance.

Nous remercions les techniciens des laboratoires de Côte-d'Or, de la Dordogne et de la Seine-Maritime ainsi qu'Edouard Réveillaud.

Nous sommes très reconnaissants aux piégeurs et aux chasseurs sans qui ces enquêtes n'auraient pu avoir lieu.