

RÔLE DES POPULATIONS SAUVAGES DANS LE SYSTÈME MULTI-HÔTES DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN CÔTE-D'OR : ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION-RETOUR AUX BOVINS ET DU RISQUE DE CONSTITUTION DE RÉSERVOIR SAUVAGE *

Ariane Payne^{1,2,3}, Jean Hars¹, Céline Fossot⁴, Élodie Barbier⁴, Alain Hartmann⁴,
Maria-Laura Boschioli⁵, Eric Gueneau⁶, Barbara Dufour³ et Emmanuelle Gilot-Fromont²

RÉSUMÉ

Mycobacterium bovis peut être transmis à des populations sauvages variées dont certaines peuvent entretenir l'infection et/ou la retransmettre aux cheptels bovins, pouvant empêcher leur assainissement. En Côte-d'Or, la tuberculose bovine, en recrudescence depuis plusieurs années chez les bovins, circule également dans le compartiment sauvage composé sur ce site de blaireaux, sangliers, cerfs et renards. Afin d'établir leur statut épidémiologique et d'évaluer dans quelle mesure ces populations pouvaient constituer une source d'infection pour les bovins, nous avons estimé différents facteurs de risque : les niveaux d'infection et d'excrétion, les niveaux de densité, et le niveau de contact avec les bovins. Ici nous décrivons particulièrement l'estimation de la capacité d'excrétion et du niveau de contact par suivi de sites d'élevage. Nos résultats suggèrent qu'en Côte-d'Or, les trois populations ayant le rôle le plus important et aptes à retransmettre l'infection aux bovins sont le blaireau, le sanglier et le cerf, mais d'autres études sont encore nécessaires pour confirmer ces hypothèses et savoir si certaines espèces peuvent entretenir l'infection de façon autonome. En outre, elles pourraient, conjointement, constituer une communauté d'hôtes réservoir.

Mots-clés : *Mycobacterium bovis*, système multi-hôtes, réservoir, faune sauvage, transmission, évaluation du risque.

SUMMARY

Mycobacterium bovis can be transmitted to various wild populations, and some of them are able to maintain or to spillback the infection to cattle, thus hampering control strategies.

Our objective was to investigate the role of the different wild populations involved in the *M. bovis* multi-host system of Côte-d'Or. In this region, bovine tuberculosis has been reoccurring in cattle since 2002 and has also been found in badgers, wild boar, red deer and foxes. To do so, we have assessed different risk factors. These include infection rate, ability to shed *M. bovis*, populations' densities and level of indirect contact between these wild populations and cattle. In this paper, we have focused on the excretion capacity and the estimation of the level of contact by using remote surveillance in farms.

.../..

* Texte de la conférence présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA-RFSA, 18 mars 2014

¹ Unité sanitaire de la faune, Direction des études et de la recherche, Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), 38610 Gières, France

² Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558 Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, 69622 Villeurbanne Cedex, France

³ Unité EPIMAI, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), USC ANSES, 94700 Maisons-Alfort, France

⁴ INRA, UMR 1347 Agroécologie pôle microbiologie environnementale et risque sanitaire, 17 rue Sully, 21065 Dijon cedex, France

⁵ Unité des zoonoses bactériennes, laboratoire de santé animale LERPAZ, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de la santé et du travail (ANSES), 94702 Maisons-Alfort, France

⁶ Laboratoire départemental de la Côte-d'Or, 2 ter rue Hoche, 21017 Dijon, France

.../..

Our results suggest that, in this study site, badgers, wild boar and red deer may be able to spillback the infection to cattle. Nevertheless, further studies are required to confirm these hypotheses and to investigate whether some of these wild populations can act, individually as reservoirs. It might also be the case that, taken jointly, these wild populations could constitute a maintenance community.

Keywords: *Mycobacterium bovis*, Multi-host system, Reservoir, Wildlife, Transmission, Risk assessment.



I - INTRODUCTION

La circulation de *M. bovis* au sein de systèmes multi-hôtes complexes impliquant des populations sauvages complique le contrôle de la maladie et menace l'assainissement des cheptels bovins [Philipps *et al.*, 2003 ; Corner, 2006]. Face à ces situations, il est nécessaire de connaître le rôle épidémiologique de ces populations sauvages. Des exemples à l'étranger ont montré que différentes espèces sauvages pouvaient être réservoir de l'infection. Aux Etats-Unis, dans l'Etat du Michigan, le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) a été identifié comme réservoir de l'infection [Miller et Sweeney, 2013]. En Espagne, c'est le cas des populations de sangliers (*Sus scrofa*) et de cerfs élaphe (*Cervus elaphus*) qui sont considérés comme des hôtes réservoirs [Vicente *et al.*, 2006 ; Naranjo *et al.*, 2008] tandis que dans les îles britanniques, ce statut épidémiologique est attribué au blaireau (*Meles meles*) [Bourne *et al.*, 2007 ; Murphy *et al.*, 2010].

La France a acquis le statut indemne de tuberculose bovine en 2001 auprès de l'Union Européenne. Cependant, depuis 2004, une recrudescence de l'infection est observée chez les bovins, et parallèlement, dans la faune sauvage, des cas groupés, appartenant à différentes espèces, ont été détectés chez des cerfs, des sangliers, des blaireaux, des renards (*Vulpes vulpes*) et des chevreuils (*Capreolus capreolus*) dans plusieurs départements, notamment en Côte-d'Or et en Dordogne [Hars *et al.*, 2012 ; Payne *et al.*, 2013].

En Côte-d'Or, 178 troupeaux de bovins ont été déclarés infectés entre 2002 et 2013 (source DGAI). On observe par ailleurs un nombre croissant de recontaminations (élevages ayant subi un abattage

total ou partiel et une désinfection se recontaminant parfois à plusieurs reprises et dans un bref délai). Dans ce département, au sein de la zone d'infection bovine, des cerfs, des sangliers, des blaireaux et des renards ont également été trouvés infectés par *M. bovis*. Ces populations sauvages partagent les mêmes souches de *M. bovis* sur le plan génotypique que les bovins, attestant du lien épidémiologique qui existe entre les deux compartiments [Payne *et al.*, 2013]. Pourtant, le rôle épidémiologique des différentes populations sauvages impliquées est mal connu. Ce rôle pourrait être celui d'un réservoir de l'infection, à savoir que la population serait capable d'entretenir l'agent pathogène de façon autonome par transmission intraspécifique et pourrait être source d'infection pour d'autres populations réceptives ; celui d'un hôte de liaison, incapable de maintenir seul, de façon pérenne, l'infection sans source de contamination extérieure à la population mais pouvant transmettre l'agent pathogène à une autre population ; ou enfin de cul-de-sac épidémiologique ne jouant aucun rôle ni dans la maintenance de l'infection ni dans sa transmission [Ashford, 2003 ; Caley & Hone, 2005 ; Rhyan & Spraker, 2010 ; Nugent, 2011]. Au vu des efforts entrepris dans la filière bovine pour contrôler l'infection, il est nécessaire d'améliorer les connaissances et notamment d'évaluer quels sont les risques de transmission-retour de *M. bovis* des populations sauvages vers les bovins et si ces populations ont la capacité à devenir des réservoirs de l'infection.

Afin de répondre à cet objectif, nous avons estimé, pour les différentes espèces sauvages réceptives à *M. bovis* en Côte-d'Or, plusieurs paramètres qui

conditionnent ce risque : le niveau d'infection, la capacité d'excrétion, le niveau de densité de population et le niveau de contact indirect avec les bovins. La caractérisation de ces contacts devait également nous permettre de proposer des mesures de gestion visant à réduire le risque de contact. Les populations de sangliers et blaireaux ont été les plus étudiées car elles sont, dans cette région, les populations sauvages les plus touchées par la tuberculose. Le cerf a également été étudié, dans une moindre mesure car à la date de notre étude, un seul individu avait été trouvé infecté en 2003 ; et enfin nous n'avons pas estimé tous les paramètres pour le renard, considéré comme un cul-de-sac épidémiologique [Bruning-Fann *et al.*, 2001 ; Delahay *et al.*, 2007].

Ici, nous proposons de détailler l'estimation de deux paramètres: la capacité d'excrétion et le niveau de contact indirect entre populations

sauvages et bovins. Pour ce dernier paramètre, nous avons procédé, d'une part, à un suivi d'individus (sangliers et blaireaux uniquement) par télémétrie afin de déterminer leur niveau d'utilisation des pâtures et, d'autre part, à un suivi de sites en élevage par vidéosurveillance, afin de pouvoir quantifier la fréquentation de ces sites par la faune sauvage. Dans cet article, nous nous sommes focalisés sur ce dernier estimateur du niveau de contact.

Pour l'estimation des autres paramètres, nous renvoyons au manuscrit de thèse [Payne, 2014 sous presse] dans le cadre de laquelle ce travail a été réalisé. Dans la partie discussion, nous proposons une synthèse de l'ensemble des résultats pour l'évaluation du risque de transmission-retour aux bovins et pour le risque de constitution de réservoir sauvage.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. SITE D'ÉTUDE

La zone d'étude correspond à la zone d'infection bovine de la Côte-d'Or. Les foyers bovins recensés depuis 2002 se répartissent dans une zone s'étendant sur 80 km du nord au sud et sur 40 km de l'est à l'ouest représentant une zone coalescente d'environ 2 500 km² à l'ouest de Dijon.

Deux types de paysage se distinguent : la moitié sud de la zone est couverte à 60 % par de la forêt mixte, les massifs forestiers étant interrompus par des petites vallées avec des pâtures et des cultures. La moitié nord présente un paysage bocager fragmenté dominé par le milieu ouvert qui représente environ 70 à 80 % de la surface totale. De ce fait, les exploitations bovines sont plus denses dans la zone nord alors que le grand gibier (sanglier et cervidés) est plus abondant au sud. Il faut également noter qu'en zone sud, plusieurs éleveurs laissent leurs bovins à l'herbe toute l'année.

Ces deux zones correspondent également à des entités épidémiologiques relativement distinctes puisque des souches de *M. bovis* avec deux génotypes différents circulent au début des années 2000 à la fois chez les hôtes domestiques et sauvages : SB0120 (anciennement BCG-like) au nord et SB0134 (anciennement GB35) au sud.

2. CAPACITE D'EXCRÉTION

La localisation et la sévérité des lésions sont des indicateurs des voies et des niveaux d'excrétion [Delahay *et al.*, 2001 ; Corner, 2006 ; Zanella *et al.*, 2008]. Ainsi, la présence de lésions ouvertes purulentes et étendues entraîne probablement un niveau d'excrétion plus élevé que des lésions caséocalcaires circonscrites. Cependant, la pathogénie complexe de la tuberculose, la variabilité de la réponse immunitaire de chaque hôte et la sensibilité des méthodes d'examen post-mortem peuvent rendre l'interprétation plus complexe. Ainsi, en Angleterre et en Irlande, les blaireaux infectés par *M. bovis* porteurs de lésions macroscopiques sont minoritaires et ne sont pas considérés comme les seuls ayant la capacité d'excréter, les blaireaux porteurs de lésions microscopiques non détectées par une autopsie de routine peuvent en effet également excréter [Jenkins *et al.*, 2008 ; Gavier-Widén *et al.*, 2009]. Cette capacité d'excrétion ne peut alors être objectivée qu'en recherchant *M. bovis* directement dans les excréta d'animaux infectés.

Pour évaluer la capacité d'excrétion des populations de cerfs, de sangliers et de blaireaux de la Côte-d'Or, nous nous sommes fondés, d'une part, sur des données acquises à partir de la

bibliographie, d'autre part, sur la prévalence lésionnelle chez les individus infectés et sur l'aspect des lésions ; enfin, une étude expérimentale, visant à rechercher *M. bovis* dans les excréta a été mise en œuvre chez le blaireau.

2.1. PRÉVALENCE LÉSIONNELLE ET TYPE DE LÉSIONS

Entre 2003 et 2013, 719 cerfs, 1 273 sangliers et 1 152 blaireaux ont été échantillonnés dans la zone d'infection bovine et ont fait l'objet d'un examen *post-mortem* dans le cadre de la surveillance active de la faune sauvage mise en œuvre par les services vétérinaires. Les cerfs et les sangliers étaient issus d'animaux tirés à la chasse tandis que les blaireaux provenaient des opérations de piégeage mises en place pour lutter contre la tuberculose.

Pour les cerfs et sangliers, les chasseurs mettaient les carcasses ou une partie de celles-ci (tête, trachée et poumon) à disposition d'un vétérinaire vacataire chargé des inspections et des prélèvements.

Pour les blaireaux, les cadavres entiers étaient acheminés au laboratoire départemental pour analyse. Ils étaient le plus souvent congelés pour régulariser leur flux d'arrivée au laboratoire.

L'examen macroscopique des tissus était focalisé sur les nœuds lymphatiques (céphaliques, thoraciques, mésentériques et périphériques chez le blaireau) ainsi que sur les organes thoraciques. Chaque nœud lymphatique a été incisé pour un examen interne. Des incisions ont également été pratiquées dans le poumon, et pour le blaireau dans le foie et les reins. Le médiastin, la plèvre et le péricarde ont également été inspectés si ces organes étaient présents sur la carcasse.

La nature des lésions, et notamment lorsqu'elles étaient évocatrices de tuberculose (lésions caséuses, caséo-calcaire, purulentes, miliaries...), était notée.

2.2. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

2.2.1. Échantillonnage et prélèvements des excréta

Les prélèvements ont été réalisés au cours de la campagne de piégeage 2011. Les animaux prélevés étaient issus du même échantillonnage que ceux de la surveillance programmée. Ainsi, environ 300 blaireaux analysés au laboratoire départemental de Côte-d'Or (LDCO) et provenant de la zone infectée ont fait l'objet de prélèvements d'excréta. Les analyses des excréta ont ensuite

été réalisées sur les blaireaux ayant fourni un résultat positif en PCR et/ou en culture. Au total, 25 blaireaux ont été inclus dans l'analyse.

Les prélèvements ont été effectués au LDCO lors de l'examen *post-mortem*. Sur chaque animal, étaient réalisés un prélèvement de 2 à 5 g de glande salivaire ; un écouvillonnage trachéal réalisé sur toute la longueur de la trachée après ouverture de celle-ci ; un prélèvement d'urine directement dans la vessie au moyen d'une pipette stérile (si celle-ci était vide, 5 g de rein était prélevé) et enfin un prélèvement de 2 à 5 g de fèces pris dans le rectum.

Ces prélèvements ont été conservés par congélation avant d'être analysés. Une partie des analyses a été réalisée au LDCO et une autre partie à l'INRA de Dijon (Pôle microbiologie environnementale et risque sanitaire) selon les méthodes disponibles pratiquées dans ces deux laboratoires.

2.2.2. Préparation pour la PCR

Pour les fèces, l'urine et le mucus trachéal, une première étape de lyse (lyse mécanique, thermique et chimique) était pratiquée [Ranjard *et al.*, 2003]. Après centrifugation, le lysat récupéré était purifié. La glande salivaire et le rein ont été décontaminés par mélange avec une solution à 4 % de H₂SO₄, pendant dix minutes puis neutralisés avec une solution de soude à 6 %.

L'ADN était ensuite extrait et purifié à l'aide du kit MagVet (LSI, France) utilisé sur un automate d'extraction King Fischer 96 (Thermo Scientific, France).

2.2.3. PCR

Trois PCR TaqMan en temps réel, ciblant des séquences différentes ont été réalisées (tableau 1).

- PCR ciblant la séquence IS6110, spécifique des bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* mais des séquences homologues sont également retrouvées dans d'autres bactéries du sol non tuberculeuses [Huard *et al.*, 2003]. Il n'a pas été jugé pertinent de tester les fèces, potentiellement très riches en mycobactéries avec cette PCR du fait de son manque de spécificité sur les matrices environnementales.
- PCR ciblant la séquence IS1561, présente chez tous les membres du MTBC sauf *M. microti*

[Huard *et al.*, 2003]. Elle a été réalisée à l'INRA de Dijon sur tous les excréta.

- PCR ciblant la séquence RD4, présente chez tous les membres du MTBC sauf chez *M. bovis* [Huard *et al.*, 2003]. Cette PCR a été modifiée par l'INRA de Dijon pour cibler la séquence encadrant cette zone délétée chez *M. bovis* [Élodie Barbier, com. pers.]. Elle a été réalisée à l'INRA de Dijon sur les fèces uniquement.

Nous n'avons disposé pour ces PCR que de résultats qualitatifs, correspondant à la présence ou à l'absence de détection de l'ADN à partir d'une

valeur seuil des Ct (« cycle threshold », nombre de cycles d'amplification seuil).

2.2.4. Typage génétique des souches

A partir de l'ADN extrait des excréta (à l'exception des fèces), un spoligotypage a été réalisé à l'ANSES, au laboratoire national de référence des tuberculoses animales.

Une synthèse du protocole figure dans le tableau 1.

Tableau 1

M. bovis dans la faune sauvage : préparation des échantillons et PCR réalisés sur les excréta analysés en 2011 en Côte-d'Or

	Fèces	Urine	Écouvillon trachéal ou laryngé	Glande salivaire et reins ^a
Préparation à la PCR	1. lyse 2. extraction et purification de l'ADN	1. lyse 2. extraction et purification de l'ADN	1. mise en solution avec PBS 2. lyse 3. extraction et purification de l'ADN	1. décontamination 2. lyse 3. extraction et purification de l'ADN
PCR réalisée	<i>IS1561</i> <i>RD4</i>		<i>IS6110</i> <i>IS1561</i>	
Spoligotypage	<i>non</i>		<i>oui</i>	

^a en l'absence d'urine dans la vessie

3. CONTACT FAUNE SAUVAGE/BOVINS PAR SUIVIS DE SITES D'ÉLEVAGE

3.1. DÉFINITION DES POINTS SURVEILLÉS ET CHOIX DES EXPLOITATIONS

Afin de mesurer l'attractivité de sites d'élevage pour la faune sauvage, nous avons réalisé un suivi par vidéosurveillance de différentes infrastructures d'élevage sur les pâtures et dans les bâtiments d'élevage. Cette méthode a, en outre, permis de visualiser les animaux et ainsi de récolter des données comportementales conduisant à une meilleure estimation des potentialités de transmission de l'infection.

Les élevages ont été choisis à l'intérieur de la zone d'infection bovine, répartis sur les parties nord et sud. Nous avons privilégié des secteurs où ont été trouvés, de façon récurrente, des élevages et des animaux sauvages atteints de tuberculose, notamment des élevages ayant subi des contaminations par *M. bovis* récurrentes et multiples. Au total, vingt cinq élevages ont été

inclus dans l'analyse. Pour chaque élevage, un ou plusieurs sites étaient déterminés (un bâtiment d'élevage et/ou une ou plusieurs pâtures). Au total, cinquante sites ont été étudiés. Afin de pouvoir tester l'effet de la proximité de la lisière, nous avons choisi quarante et un sites situés à une distance inférieure à 500 m et neuf sites à une distance supérieure à 500 m de la lisière la plus proche. La difficulté à trouver des sites éloignés de massifs forestiers (en excluant des sites en milieu trop « anthropisés ») explique ce déséquilibre.

Au sein de chaque site, nous avons défini plusieurs types de points potentiellement attractifs : sur les pâtures, les auges (hauteur comprise entre 10 et 60 cm, pouvant contenir des céréales mélangées), les nourrisseurs à veaux (hauteur comprise entre 50 et 75 cm, contenant la plupart du temps des concentrés), les pierres à sel (posées au sol), les abreuvoirs (hauteur comprise entre 20 et 60 cm) et les points d'eau naturels (rivière, mare, source). En bâtiment d'élevage, nous avons suivi des stabulations et des réserves d'aliments (céréales,

blé ou orge, stockées en hangar, silos à grains abrités, ensilage de maïs en plein air).

Au total, cent un points différents ont été surveillés.

3.2. PROTOCOLE DE SURVEILLANCE

Nous avons utilisé dix-neuf pièges photo à déclenchement automatique par le mouvement, fonctionnant uniquement la nuit. Les appareils étaient installés pendant dix jours consécutifs, une fois par mois sur chaque point surveillé, correspondant à une session permettant ainsi une rotation sur trois points différents au cours du mois. La surveillance s'est déroulée de décembre 2011 à janvier 2013, afin de couvrir une année entière et les quatre saisons. Tous les points n'ont cependant pas été surveillés sur une année entière, la surveillance ayant été interrompue lorsque le point attractif n'était plus présent ou plus alimenté. De plus, certains élevages ont été recrutés en cours de protocole.

A chaque déclenchement de l'appareil, une vidéo de 20 secondes était enregistrée, durée jugée suffisamment longue pour recenser les individus et visualiser leur comportement tout en préservant les batteries.

3.3. ANALYSES

La session a représenté l'unité d'analyse. Chacune d'elles était caractérisée par un nombre de nuits de surveillance effective (c'est-à-dire pendant lesquelles, l'appareil était en état de fonctionnement), une saison, un site et un type de point surveillé. Afin de gagner en puissance dans l'analyse, nous avons regroupé certains types de points. Ainsi, les auges des stabulations et tous les types de réserves de céréales (ensilages, stockages de grains sous hangar, moulin à grain, silos) ont été regroupés en une seule modalité représentant le bâtiment d'élevage. En pâture, les nourrisseurs et les auges ont été réunis en une seule modalité sauf pour l'étude des comportements.

Pour chacune des sessions, nous avons recensé le nombre de visites de chaque espèce sauvage observée sur les vidéos (blaireau, cerf, sanglier, renard et chevreuil). Une visite était définie par l'observation d'au moins un individu d'une espèce sauvage donnée dans un intervalle de temps inférieur ou égal à 30 minutes. Nous avons considéré ainsi que plusieurs vidéos déclenchées à des intervalles de temps inférieur à 30 minutes sur

un même appareil pour une espèce donnée constituaient un événement (= une visite).

Pour expliquer les variations du nombre de visites de chaque espèce, nous avons utilisé un modèle linéaire généralisé mixte avec un lien Poisson, classiquement utilisé pour analyser les données de comptage. Nous avons placé le site en variable aléatoire, afin de tenir compte de la dépendance très probable des visites sur une même unité géographique. Pour standardiser la durée de surveillance de chaque session, le nombre de nuits de surveillance effective a été transformé en log et placé en offset dans le modèle. Le nombre de visites a été modélisé indépendamment pour le cerf, le sanglier, le blaireau, le renard et le chevreuil. Ici, nous présentons uniquement les résultats des modèles pour les trois premières espèces.

Les variables explicatives testées dans le modèle ont été le type de point surveillé, la saison, l'interaction entre ces deux variables, la zone (nord ou sud) et la proximité à la lisière (moins de 500m ou plus de 500m). *A posteriori*, pour le cerf, nous n'avons pas testé la zone car aucune visite de cerf n'a été observée en zone nord (population peu abondante). De plus, pour cette espèce, afin d'éviter les classes nulles et ainsi améliorer le modèle, nous avons regroupé les types de points abreuvoirs et points d'eau en points d'abreuvement, faisant l'hypothèse que les cerfs venaient pour s'abreuver dans ces deux types de points et que l'attractivité était similaire. Pour les mêmes raisons, nous avons regroupé l'auge avec le bâtiment d'élevage en points d'alimentation.

La sélection de modèle a été réalisée en suivant la procédure de Zuur *et al.* [2009] : pour choisir les variables à retenir dans la partie fixe, nous avons ajusté tous les sous-modèles possibles à partir du précédent, en commençant par le modèle le plus complexe biologiquement pertinent. Au cours de la procédure nous avons retenu les modèles présentant les plus faibles AIC (Akaike information criterion) à chaque étape. Nous avons également appliqué le principe de parcimonie : lorsque deux modèles avaient des valeurs AIC proches (différence inférieure à 2), nous avons choisi celui comportant le moins de paramètres.

Dans un second temps, nous avons caractérisé les visites de cerfs, de sangliers et de blaireaux. Pour cela, pour chaque espèce, nous avons calculé :

- La durée moyenne des visites et son écart-type, la durée étant calculée entre l'horaire de déclenchement de la première vidéo et

l'horaire de la fin de la dernière vidéo constituant la visite ;

- Le nombre moyen d'individus observés et son écart-type, le nombre retenu étant le nombre maximal d'individus vus sur une vidéo appartenant à la visite ;
- L'occurrence des comportements observés. Pour ceux-ci, huit types de comportements ont

été relevés (tableau 2). Différents comportements pouvaient être recensés au cours d'une même visite, soit parce que l'animal les montrait consécutivement, soit parce qu'ils étaient adoptés par différents individus. Seul le comportement de « passage » était inscrit à l'exclusion de tous les autres.

Tableau 2

Description des comportements des espèces sauvages relevés pour l'analyse à partir des séquences de vidéosurveillance de sites en élevage en Côte-d'Or

Type de comportement	Description
Nourrissage/abreuvement	L'animal consomme les aliments ou l'eau qui font l'objet de la surveillance (pour le sel, l'animal est vu lécher le sel)
Fouissage, vermillage*/broute	Pour les sangliers et les blaireaux, l'animal fouit ou vermill* le sol avec son museau ou son groin ; pour les cerfs, ils sont vus en train de brouter
Défécation/urination/marquage	L'animal est vu en train de déféquer ou d'uriner ou, pour le blaireau, en train de marquer par les sécrétions de la glande anale (marquage odorant)
Toilettage/grattage/baignade	L'animal est vu en train de se toiletter ou de toiletter un congénère ou de se gratter en contact physique avec le point surveillé. Sur les points d'eau, il est observé en train de se rouler ou de se baigner
Passage/interactions	L'animal passe sans qu'aucun autre comportement précédemment décrit ne soit observé Lorsque plusieurs individus sont visibles en même temps : observations d'interactions sociales (contacts rapprochés, jeux, comportements agressifs)
Contact rapproché avec bovin	L'animal est vu à une distance de moins de 2 mètres d'un bovin

* action de fouiller le sol à la recherche de vers de terre ou de larves d'insectes.

III - RÉSULTATS

1. CAPACITÉ D'EXCRÉTION

1.1. CERF

Pour cette espèce, les résultats proviennent des données bibliographiques et de la surveillance active. Ils sont résumés dans le tableau 3.

1.2. SANGLIER

Pour cette espèce, les résultats proviennent des données bibliographiques et de la surveillance active. Ils sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 3

Données bibliographiques et résultats de la surveillance active en Côte-d'Or, indicateurs de la capacité d'excrétion de *M. bovis* chez le cerf

Données bibliographiques ^a	Résultats de la surveillance active	
	Prévalence lésionnelle	Type de lésions
<ul style="list-style-type: none"> • Lésions très fréquentes caséuses ou purulentes avec une forte charge bactérienne, souvent disséminées localisées dans les NL céphaliques, thoraciques et mésentériques et dans les poumons • excrétion démontrée par voie oropharyngée et nasale 	trois cerfs porteurs de lésions sur quatre positifs en culture	Lésions disséminées à différents organes thoraciques et abdominaux, purulentes et ouvertes

^a Lugton *et al.*, 1998 ; Palmer *et al.*, 2004 ; Johnson *et al.*, 2008 ; Zanella *et al.*, 2008 ; Martín-Hernando *et al.*, 2010

Tableau 4

Données bibliographiques et résultats de la surveillance active en Côte-d'Or, indicateurs de la capacité d'excrétion de *M. bovis* chez le sanglier

Données bibliographiques ^a	Résultats de la surveillance active	
	Prévalence lésionnelle	Type de lésions
<ul style="list-style-type: none"> • Lésions fréquentes de type caséo-calcaire stabilisées et localisées à un seul site (NL céphalique ou poumon) sauf en Espagne où elles sont plus disséminées et ouvertes, charge bactérienne plus élevée dans les poumons • Excrétion fortement suspectée par voie respiratoire, salivaire et fécale 	70 % des sangliers positifs en culture étaient porteurs de lésions	Lésions localisées préférentiellement aux NL céphaliques ou au poumon. Formes généralisées très rares Type caséo-calcaire majoritaire

^a Gortazar *et al.*, 2003 ; Martín-Hernando *et al.*, 2007 ; Zanella, Duvauchelle *et al.*, 2008

1.3. BLAIREAU

Pour cette espèce, les résultats de l'étude expérimentale s'ajoutent à ceux de la surveillance active et aux données bibliographiques. Ils figurent dans le tableau 5.

Un total de 498 visites a été détecté, 170 visites de renards (34 %), 141 visites de sangliers (28 %), 97 visites de chevreuils (19 %), 50 visites de blaireaux (10 %) et 40 visites de cerfs (8 %).

2. CONTACT FAUNE SAUVAGE-BOVINS PAR SUIVIS DE SITES D'ÉLEVAGE

2.1. DONNÉES RÉCOLTÉES

Sur l'ensemble des points surveillés, l'effort de piégeage a été de 2 984 nuits-pièges se répartissant en 254 sessions d'une durée moyenne de 11,6 nuits et d'un écart-type de 5,9. Parmi les 254 sessions, 107 se sont déroulées dans la zone nord (pour un total de 1 221 nuits) et 147 dans la zone sud (totalisant 1 763 nuits).

2.2. NOMBRE DE VISITES PAR NUIT ET FACTEURS DE VARIATION

2.2.1. Cerfs

La fréquence des visites de cerfs a été en moyenne $0,020 \pm 0,141$ (écart-type) par nuit par session. Aucune visite de cerf n'a été observée en bâtiment d'élevage ni en hiver quel que soit le site. Les cerfs ont surtout fréquenté les pierres à sel. Parmi les différents types d'auges, seuls les nourrisseurs ont été visités.

Tableau 5

Données bibliographiques, résultats de la surveillance active en Côte-d'Or et résultats de l'étude expérimentale portant sur la capacité d'excrétion de *M. bovis* chez le blaireau

Données bibliographiques ^a	Résultats de la surveillance active		Résultat de l'étude expérimentale
	Prévalence lésionnelle	Type de lésions	
<ul style="list-style-type: none"> Lésions peu fréquentes, nodulaires +/-caséuses, souvent localisées à un seul site (NL thoraciques, poumon, céphaliques ; périphériques) Excrétion démontrée par voie respiratoire, urinaire, fécale et par le pus de blessure, parfois en l'absence de lésion visible. Niveaux d'excrétion pouvant être élevés 	9 % des blaireaux positifs en culture étaient porteurs de lésions.	Lésions localisées préférentiellement aux NL céphaliques, poplités et à la glande salivaire. Formes généralisées très rares. Type nodulaire caséux majoritaire	<ul style="list-style-type: none"> 14 blaireaux avaient au moins un excréta positif à l'une des PCR avec confirmation par spoligotypage sur les 25 animaux de statut positif en PCR et/ou culture (un seul avec lésion visible) 7 blaireaux avaient au moins 2 prélèvements (= 2 voies d'excrétion) positifs Les 4 voies d'excrétion testées ont fourni des prélèvements positifs

^a Gallagher *et al.*, 1998 ; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000 ; Jenkins *et al.*, 2008 ; Gavier-Widén *et al.*, 2009 ; Corner *et al.*, 2010 ; Murphy *et al.*, 2010 ; Balseiro *et al.*, 2011 ; Payne *et al.*, 2013

Le modèle retenu inclut le type de point, la saison et l'interaction entre ces deux variables (AIC = 112,4, nombre de paramètres : 13). Il montre que les cerfs ont eu tendance à fréquenter préférentiellement les pierres à sel (printemps, été), puis les points d'alimentation (été, automne) et les points d'abreuvement (printemps)

2.2.2. Sangliers

La fréquence des visites de sangliers fut en moyenne de $0,050 \pm 0,194$ par nuit par session. Tous les types de points ont été fréquentés en pâture. Les abreuvoirs ont été les points les plus visités.

Le modèle sélectionné intègre le type de point, la saison et l'interaction entre ces deux variables et la zone (AIC = 295,4, nombre de paramètres : 21). Les fréquences de visite ont été importantes surtout en été sur les points d'eau, et dans une moindre mesure aux abreuvoirs (printemps, été) et au sel (été).

2.2.3. Blaireaux

La fréquence des visites de blaireaux a été de $0,016 \pm 0,073$ en moyenne par nuit par session. En pâture, les blaireaux ont fréquenté tous les types de points. Les auges ont été les installations les plus visitées. En bâtiment, ils n'ont été observés qu'au niveau des réserves de céréales (moulin à grain ou hangar de stockage de céréales).

Le modèle retenu pour expliquer la fréquence de visite inclue le type de point et la saison (AIC= 202,9, nombre de paramètres : 9). Les blaireaux ont davantage fréquenté les auges que les autres points. La saison la moins propice aux visites a été l'automne.

Pour ces trois espèces, l'effet site a été important puisqu'il explique plus de 60 % de la variabilité dans chacun des modèles sélectionnés.

2.3. DESCRIPTION DES VISITES

La durée moyenne des visites, le nombre moyen d'individus par visite ainsi que les comportements principaux observés figurent dans le tableau 6.

Tableau 6
Description de l'ensemble des visites de cerf, de sanglier et de blaireau observées sur les points d'élevage surveillés

	Durée moyenne (minutes) ± ET	Nombre moyen d'individus ± ET	Principaux comportements observés
Cerf	14,1 ± 47,0	1,6 ± 0,9	Consommation (pierre à sel et abreuvoir)
Sanglier	14,8 ± 44,2	5,2 ± 5,7	Fouissage puis consommation (auges, points d'abreuvement et pierre à sel)
Blaireau	2,7 ± 8,3	1,0 ± 0	Passage puis consommation (auge)

III - SYNTHÈSE ET DISCUSSION

Dans cette partie, nous discutons tout d'abord les limites méthodologiques des études expérimentales exposées dans cet article (capacité d'excrétion du blaireau et suivi des sites) puis nous avons synthétisé l'ensemble des résultats de l'estimation des autres paramètres non détaillés ici pour proposer une évaluation du risque de transmission-retour de *M. bovis* de la faune sauvage aux bovins.

Nous avons traité dans un deuxième temps du potentiel de constitution de réservoir par les populations sauvages étudiées.

1. LIMITES MÉTHODOLOGIQUES

1.1. CAPACITÉ D'EXCRÉTION

Cette étude est la première décrite qui utilise trois PCR, ciblant des séquences génétiques différentes, sur des prélèvements biologiques pour la recherche de *M. bovis* dans les excréta de blaireaux. De par l'aptitude conjointe des PCR à discriminer *M. bovis* et grâce à la confirmation réalisée par le typage génétique, nous pouvons faire l'hypothèse d'une bonne spécificité du diagnostic. En revanche, nos résultats ne peuvent être interprétés qu'en termes qualitatifs. D'autres travaux sont en effet nécessaires pour leur interprétation quantitative qui pourrait fournir une indication sur le niveau d'excrétion.

Il faut également tenir compte du fait que c'est l'ADN qui est détecté, la méthode est donc probablement plus sensible car moins dépendante de l'état de dégradation des bactéries dans les prélèvements mais le nombre de copies des séquences génétiques détecté n'est pas forcément

équivalent à un nombre de bactéries viables et donc potentiellement infectantes [Courtenay *et al.*, 2006].

1.2. SUIVI DES SITES

Différentes contraintes (principalement de conduite d'élevage) n'ont pas permis de suivre tous les sites tout au long de l'année de suivi. Il y a donc eu un déséquilibre du plan d'échantillonnage engendrant une possible confusion entre l'effet des saisons, l'effet du site et celui du type de point. Les résultats ont montré une forte hétérogénéité des fréquences de visite selon les sites. Il y a donc vraisemblablement des particularités liées aux sites et sans doute spécifiques de chaque espèce qui pourraient expliquer leur niveau de fréquentation. Cet effet site mériterait d'être exploré davantage (configuration paysagère, densités locales, gestion des points attractifs), d'autant que cette attractivité variable est probablement un facteur de risque majeur du contact domestique-sauvage et donc du risque de transmission de la tuberculose.

Concernant le dispositif de vidéosurveillance, 5 % des sessions n'ont pu être prises en compte principalement par défaut technique des appareils ou des batteries, ce qui a entraîné une perte de données. Le champ de vision du piège-photo ne permettait pas toujours de couvrir la totalité de l'espace ciblé et il est possible que des visites aient eu lieu dans ces « angles morts » ou que des comportements n'aient pas pu être visualisés. De plus, lorsqu'un animal passait rapidement devant le point, la vitesse de déclenchement des appareils n'a pas permis de récolter la donnée. Enfin, la

charge des batteries a parfois été un facteur limitant, ne permettant pas d'enregistrer toute la durée de la visite.

Ces contraintes techniques ont surement résulté en une sous-estimation du nombre de visites et de leur durée.

2. ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION-RETOUR AUX BOVINS

2.1. DÉMARCHE UTILISÉE POUR L'ÉVALUATION DU RISQUE

Afin de déterminer quel pouvait être le risque de transmission-retour de *M. bovis* des populations de cerfs, sangliers et blaireaux aux bovins, nous avons utilisé les résultats de l'estimation des différents paramètres conditionnant ce risque : niveaux de prévalence et de densité de population et capacité d'excrétion ainsi que niveaux de contact avec les bovins, déterminés à partir du suivi d'individus par télémétrie et du suivi de sites en élevage par vidéosurveillance (pour le détail de l'estimation des paramètres autres que ceux exposés dans le présent article, nous renvoyons au manuscrit de thèse Payne, 2014). Puis pour chacune des zones (nord et sud) et pour chaque population (cerf, sanglier et blaireau), nous avons attribué un score qualitatif à chacun des paramètres et nous les avons cumulés graphiquement sous forme d'histogramme. Le score qualitatif est fondé sur la méthode d'évaluation des risques d'analyse de risque en santé animale de l'ANSES [AFSSA, 2008] issue de l'analyse du risque à l'importation éditée dans le code terrestre de l'Office international des épizooties [OIE, 2010]. Cette méthode utilise dix niveaux graduels (de nul à très élevé) pour qualifier la probabilité d'émission de survenue d'un événement sanitaire (tableau 7). Conformément à la méthode, chaque niveau de risque a été discuté de façon collégiale avec Barbara Dufour, Emmanuelle Gilot-Fromont et Jean Hars [Dufour et Plée, 2009].

Cette méthode d'évaluation du risque qualitatif comprend une part de subjectivité indéniable mais elle constitue, en première approche, un outil permettant de prendre en compte de façon explicite les différents facteurs qui conditionnent le risque évalué, dans l'état actuel des connaissances.

Dans un second temps, nous avons évalué, pour chaque type de point suivi (auge, nourrisseur, pierre à sel, abreuvoir, point d'eau et bâtiment) et

pour chaque espèce (cerfs, sangliers et blaireaux), le risque de transmission-retour de ces populations aux bovins sur la base des résultats de la capacité d'excrétion, du suivi des sites d'élevage, et des données bibliographiques sur la rémanence de *M. bovis* dans différents substrats rencontrés sur les infrastructures d'élevage (sol en pâture, aliments, bâtiment, eau) [Duffield et Young, 1984 ; Jackson *et al.*, 1995 ; Fine *et al.*, 2011]. Pour cela, comme précédemment, nous avons utilisé l'échelle qualitative ordinale de l'ANSES (tableau 7) en attribuant un score qualitatif au niveau de fréquentation du point, à la durée moyenne des visites sur ce type de point, au nombre moyen d'individus, à l'opportunité d'excrétion (en combinant la capacité d'excrétion de l'espèce avec les comportements visualisés sur le type de point concerné) et à la persistance de *M. bovis* et nous avons cumulé chaque score.

2.2. ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION-RETOUR PAR ESPÈCE ET PAR ZONE

Chaque paramètre est exprimé avec un certain degré d'incertitude (tableau 8) et ce d'autant plus que notre estimation a été partielle (par exemple, pour le cerf, il n'y a pas eu de suivi télémétrique pour estimer leur utilisation des pâtures). En outre, ces paramètres ne sont pas figés temporellement, nos résultats ont en effet mis en évidence un effet des saisons et des conditions climatiques sur les contacts avec les bovins. Ceux-ci ont également une influence sur la persistance de *M. bovis* [Jackson *et al.*, 1995 ; Phillips *et al.*, 2003 ; Fine *et al.*, 2011] et potentiellement sur la capacité d'excrétion, comme cela a pu être montré chez le blaireau en Angleterre [Delahay *et al.*, 2013] ou chez le sanglier en Espagne [Vicente *et al.*, 2013]. Enfin, l'évaluation du risque de transmission doit évidemment tenir compte du calendrier zootechnique qui conditionne la présence des bovins sur les pâtures ou dans les bâtiments.

Nous avons choisi de représenter cette évaluation du risque en cumulant les scores des différents paramètres en les représentant par des histogrammes (figure 1). Il est cependant difficile de connaître la part relative de chaque facteur dans la pression d'infection exercée par ces populations aux bovins, et il est possible qu'elle ne soit pas équivalente pour chacun des paramètres estimés.

Tableau 7**Grille de qualificatifs utilisés pour l'estimation des probabilités d'émission**

[Sources : AFSSA, 2008 ; Dufour et Plée, 2009]

Echelle ordinale	Qualificatifs
0	Nulle (N)
1	Quasi-nulle (QN)
2	Minime (M)
3	Extrêmement faible (EF)
4	Très faible (TF)
5	Faible (F)
6	Peu élevée (PE)
7	Assez élevée (AE)
8	Elevée (E)
9	Très élevée (TE)

Tableau 8**Évaluation qualitative [AFSSA, 2008] pour le cerf, le sanglier et le blaireau, dans les parties nord et sud de la zone infectée, du niveau de prévalence, de la capacité d'excrétion, du niveau de densité et du niveau de contact avec les bovins.**

Le score attribué sous forme d'intervalle reflète le degré d'incertitude

Zone	Prévalence	Excrétion	Densité	Contact bovin
CERF				
Zone nord	1-3	7-8	2-3	6-8 ^a
Zone sud	2-3	7-8	6-7	4-6
SANGLIER				
Zone nord	3-4	3-4	4-5	6-8 ^a
Zone sud	4-5	3-4	7-8	4-6
BLAIREAU				
Zone nord	4-5	6-7	5-6	4-6
Zone sud	3-4	6-7	4-5	1-4 ^b

^a sur la base du paysage bocager dans cette zone entraînant une interface plus importante avec les bovins qu'en zone sud

^b en zone sud, les terriers de blaireaux peuvent se trouver très proches ou éloignés de plusieurs centaines de mètres des pâtures et cette distance est un déterminant de l'utilisation des pâtures par cette espèce.

Ces limites étant posées, nous constatons que si les scores de chaque espèce diffèrent d'un paramètre à l'autre, leur combinaison semble résulter en des niveaux d'émission relativement proches compte-tenu des incertitudes qui perdurent. De légères différences apparaissent cependant.

En zone nord, c'est la population de blaireaux qui semble exercer la plus forte pression d'infection sur les bovins mais les sangliers et les cerfs, que

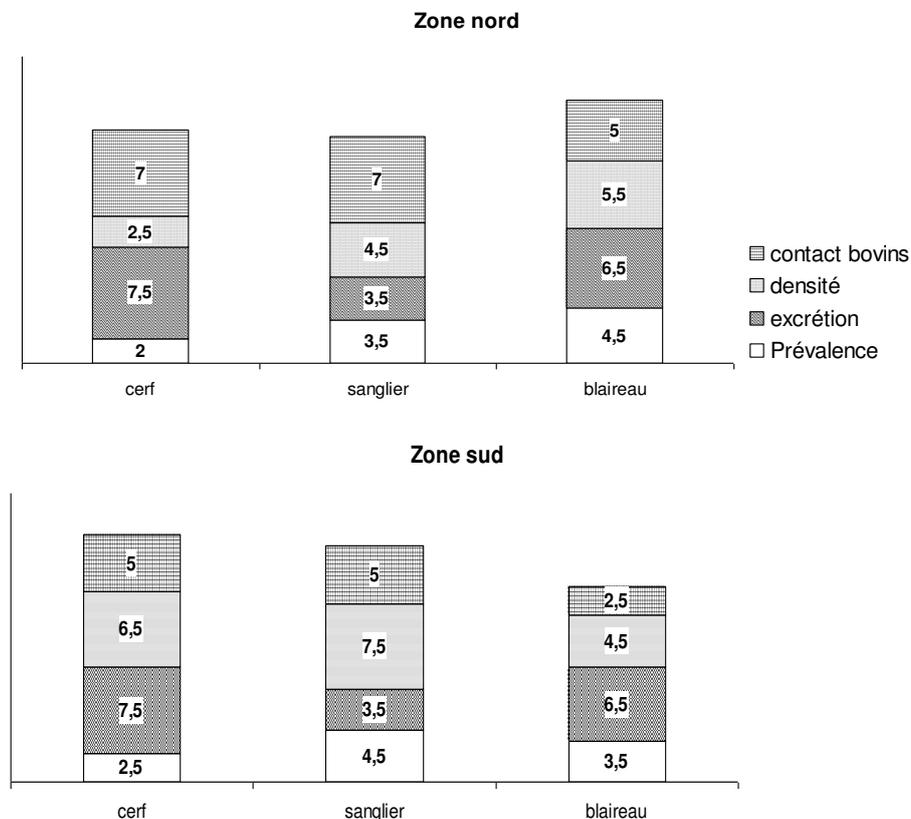
nous supposons avoir un niveau de contact élevé avec les bovins du fait du paysage très fragmenté, auraient une probabilité d'émission de l'infection proche de celle des blaireaux.

Dans la zone sud, les populations de sangliers et de cerfs semblent les plus à risque, notamment à cause de leur densité assez élevée, la capacité élevée d'excrétion pour le cerf, et la prévalence moyenne chez le sanglier (figure 1).

Figure 1

Synthèse de l'évaluation du risque qualitative de transmission-retour aux bovins par les populations de cerfs, de sangliers et de blaireaux dans la partie nord et sud de la zone infectée.

Les valeurs affichées correspondent à la valeur médiane du score attribué selon la grille de l'ANSES. (tableau 8)



2.3. ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION-RETOUR PAR ESPÈCE SUR LES INFRASTRUCTURES D'ÉLEVAGE

L'évaluation du risque est représentée dans la figure 2.

Nous réitérons les mêmes réserves que précédemment sur les limites de la méthode ainsi que sur les incertitudes que nous avons sur

certaines paramètres, leur effet cumulatif et l'influence de la saisonnalité sur le risque. Lorsque l'écart de niveau de risque apparaît important entre différents points pour une même espèce, cette représentation oriente cependant sur les points qui seraient les plus à risque pour la transmission de *M. bovis* entre ces populations sauvages et les bovins.

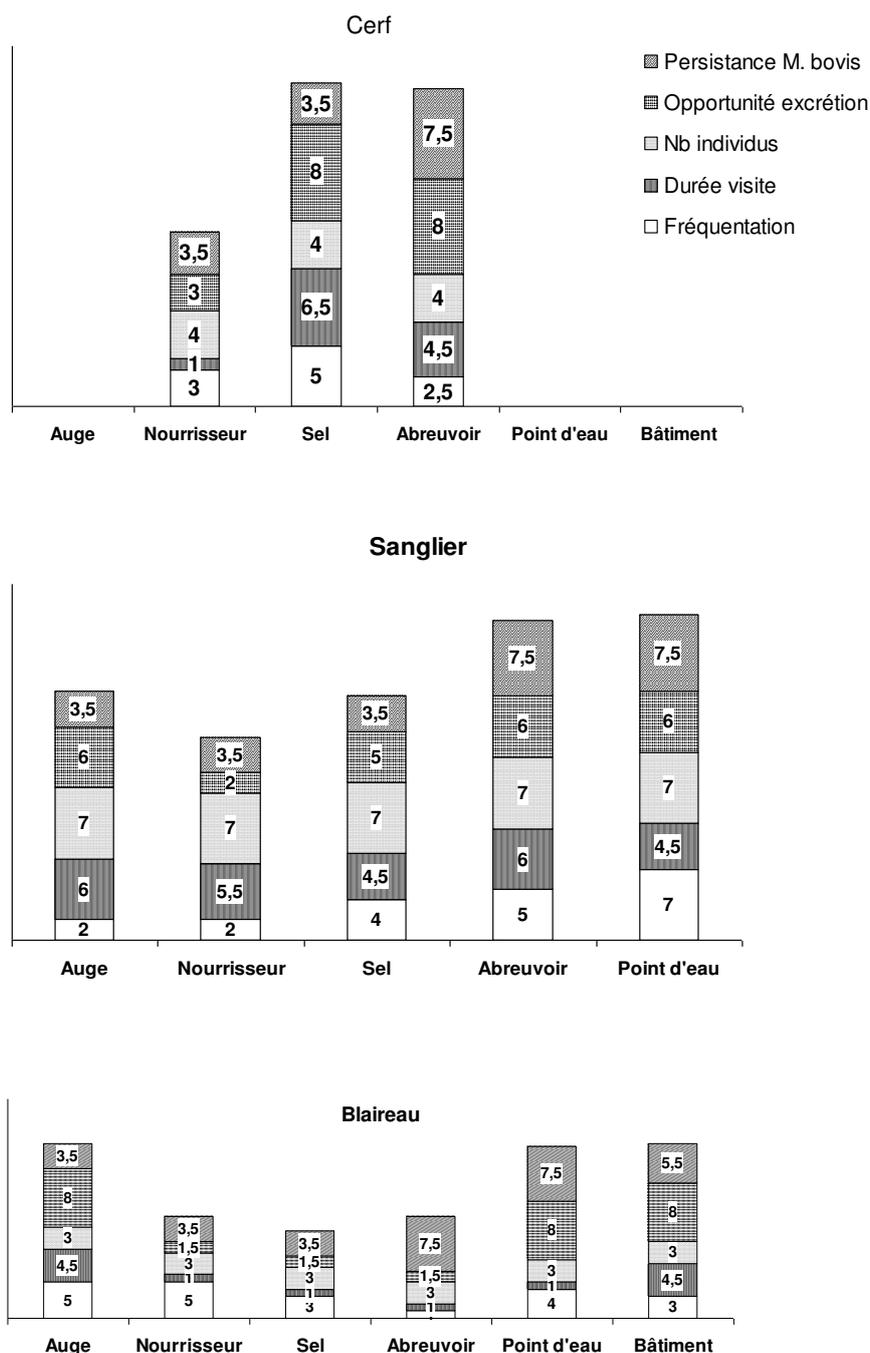
Ainsi, chez le cerf, le risque le plus élevé serait lié à l'utilisation des abreuvoirs et des pierres à sel. Chez le sanglier, l'utilisation des points d'eau et des abreuvoirs représenterait le risque de transmission le plus élevé tandis que pour le blaireau, la

fréquentation des auges, des bâtiments et des points d'eau ressort comme la plus propice à transmettre *M. bovis* aux bovins par rapport aux autres points considérés (figure 2).

Figure 2

Synthèse de l'évaluation du risque qualitative de transmission-retour aux bovins au niveau de différentes infrastructures d'élevage par les populations de cerfs, de sangliers et de blaireaux.

Les valeurs affichées correspondent à la valeur médiane du score attribué selon la grille de l'ANSES.



2.4. CONCLUSION

Au vu de nos résultats et de cette synthèse, la transmission-retour de *M. bovis* des populations de cerfs, sangliers et blaireaux de la zone infectée de Côte-d'Or semble possible. La méthode que nous avons employée pour évaluer ce risque reste néanmoins limitée à une évaluation qualitative qui ne nous permet pas de déterminer dans quelle mesure la transmission a lieu. Une approche par modélisation permettrait de fournir des résultats quantitatifs.

Les résultats qualitatifs de notre étude permettent cependant d'identifier les espèces, les zones et les infrastructures d'élevage qui sont les plus à risque pour la transmission-retour de *M. bovis* et peuvent ainsi orienter les mesures de gestion.

3. ÉVALUATION DU RISQUE DE CONSTITUTION DE RÉSERVOIR SAUVAGE

Sur un plan théorique, une population peut constituer un réservoir si son taux de reproduction de base (R_0) de la maladie est supérieur à 1, impliquant un taux de transmission et une taille de population suffisants pour permettre à l'agent de persister [Palmer, 2013]. Le niveau de prévalence, la capacité d'excrétion et le niveau de densité que nous avons estimés pour les populations de cerfs, de sangliers et de blaireaux des secteurs nord et sud de la zone infectée de Côte-d'Or fournissent donc des éléments permettant d'évaluer le risque de constitution de réservoir sauvage. Cependant, ces éléments ne sont pas suffisants et doivent être complétés par le taux de transmission

intraspécifique. Celui-ci dépend du taux de contact entre individus au sein de la population, qui est lui-même conditionné par la taille, la structure et la dynamique de la population ainsi que par le comportement social de l'espèce.

En outre, dans l'exemple de la Côte-d'Or, le système multi-hôtes de *M. bovis* est composé, en plus des bovins, de différentes populations sauvages en interaction. Dans cette configuration, le risque de constitution d'une communauté d'hôtes sauvages réservoir est également à investiguer. En effet, même dans l'hypothèse que chaque population prise séparément ne constitue pas un réservoir, l'assemblage de différents hôtes pourrait résulter en un R_0 supérieur à 1 [Haydon *et al.*, 2002 ; Lloyd-Smith *et al.*, 2005 ; Nugent, 2011], l'effet pouvant être additif en augmentant le nombre d'individus infectés et ainsi les sources de contamination ou potentialiser la circulation de l'agent pathogène, contribuant ainsi à sa persistance [Holt *et al.*, 2003 ; Ward *et al.*, 2009]. Dans ce cas, la connaissance du niveau de transmission interspécifique entre les populations sauvages composant la communauté d'hôtes est requise [Holt *et al.*, 2003 ; Fenton et Pedersen, 2005 ; Rhyan et Spraker, 2010].

Dans l'état actuel des connaissances, il est donc difficile d'évaluer le risque de constitution de réservoir sauvage en Côte-d'Or, que ce soit au niveau d'une seule population ou de la communauté d'hôtes sauvages. Une fois ces données acquises, ici encore, la modélisation pourrait être un outil utile pour investiguer ce risque.

IV - CONCLUSION

Afin d'établir le statut épidémiologique des populations sauvages en Côte-d'Or vis-à-vis de *M. bovis*, et d'évaluer dans quelle mesure ces populations pouvaient constituer une source d'infection pour les bovins, nous avons estimé, à partir d'études expérimentales et de traitements de données disponibles, différents facteurs de risque de création de réservoir et de transmission de l'infection aux bovins. Des études expérimentales ont permis d'estimer des déterminants majeurs de l'aptitude à la transmission interspécifique et intraspécifique de *M. bovis*, qui n'étaient pas connus auparavant pour ces populations. Ainsi, nous avons quantifié et

qualifié les contacts entre sangliers, blaireaux, d'une part, et bovins, d'autre part. Nous avons fourni les premiers éléments d'évaluation de la capacité d'excrétion pour le blaireau.

En synthétisant l'ensemble de ces résultats par une évaluation qualitative, la transmission-retour par les cerfs, sangliers et blaireaux semble possible avec un niveau de risque très proche. Des méthodes d'évaluation quantitative permettraient de mieux mesurer ce risque. Ces populations seraient donc des hôtes de liaison mais leur potentiel d'hôtes réservoirs reste à explorer. Des investigations supplémentaires seraient également

nécessaires pour confirmer le statut de cul-de-sac épidémiologique, attribué au renard sur des bases bibliographiques, car c'est l'espèce que nous avons observée le plus en contact avec les infrastructures d'élevage.

En outre, ces résultats peuvent être utilisés pour proposer des recommandations ciblées en matière de biosécurité en élevage portant sur les infrastructures, les saisons ou les pratiques les plus à risque pour la transmission de *M. bovis* entre faune sauvage et bovins.

BIBLIOGRAPHIE

- AFSSA. - Une méthode qualitative d'estimation du risque en santé animale, 69 pages, Maisons-Alfort, 2008.
- Ashford R.W. - When is a reservoir not a reservoir? *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, **9**, 1495-1496.
- 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.
- 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.
- Bruning-Fann C.S., Schmitt S., Fitzgerald J., Fierke J., Friedrich P., Kaneene J. - Bovine tuberculosis in free-ranging carnivores from michigan. *J. Wildl. Dis.*, 2001, **37**, 58-64.
- Caley P., Hone J. - Assessing the host disease status of wildlife and the implications for disease control: *Mycobacterium bovis* infection in feral ferrets. *J. Appl. Ecol.*, 2005, **42**, 708-719.
- Corner L.A. - The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. *Vet. Microbiol.*, 2006, **112**, 303-312.
- Corner L.A., Murphy D., Gormley E. - Mycobacterial infection in the Eurasian badger (*Meles meles*): the disease, pathogenesis, epidemiology and control. *J. Comp. Pathol.*, 2010, **144**, 1-24.
- Courtenay O., Reilly L.A., Sweeney F.P. *et al.* - Is *Mycobacterium bovis* in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis? *Biol. Lett.*, 2006, **2**, 460-462.
- Delahay R.J., Cheeseman C.L., Clifton-Hadley R.S. - Wildlife disease reservoirs: the epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*Meles meles*) and other British mammals. *Tuberculosis*, 2001, **81**, 43-9.
- Delahay R.J., Smith G.C., Barlow A.M., Walker N., Harris A., Clifton-Hadley R.S., Cheeseman C.L. - Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: a survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *Vet. J.*, 2007, **173**, 287-301.
- Delahay R.J., Walker N., Smith G.S. *et al.* - Long-term temporal trends and estimated transmission rates for *Mycobacterium bovis* infection in an undisturbed high-density badger (*Meles meles*) population. *Epidemiol. Infect.*, 2013, **141**, 1445-1456.
- Duffield B.J., Young D.A. - Survival of *Mycobacterium bovis* in defined environmental conditions. *Vet. Microbiol.*, 1984, **10**, 193-197.
- Dufour B., Plée L. - Analyse du risque en santé animale. *Bulletin des GTV*, 2009, **50**, 71-77.
- Fenton A., Pedersen A.B. - Community epidemiology framework for classifying disease threats. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 1815-1821.
- Fine A.E., Bolin C.A., Gardiner J.C., Kaneene J.B. - A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the environment under natural weather conditions in Michigan, USA. *Vet. Med. Inter.*, 2011, **2011**, ID765430.
- Gallagher J., Monies R., Rule B. - Role of infected, non-diseased badgers in the pathogenesis of tuberculosis in the badger. *Vet. Rec.*, 1998, **142**, 710-714.
- 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.

- Gavier-Widén D., Cooke M.M., Gallagher J., Chambers M.A., Gortázar C. - A review of infection of wildlife hosts with *Mycobacterium bovis* and the diagnostic difficulties of the "no visible lesion" presentation. *New Zeal. Vet. J.*, 2009, **57**, 122-131.
- Gortazar C., Vicente J., Gavier-Widen D. - Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 779-780.
- Hars J., Richomme C., Rivièrè J., Faure E., Boschirolì M.L. - Dix années de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage française et perspectives. *Bull. Épid. Hebdo.*, 2012, **52**, 2-6.
- Haydon D.T., Cleaveland S., Taylor L.H., Laurenson M.K. - Identifying reservoirs of infection: A conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002, **8**, 1468-1473.
- Holt R., Dobson A., Begon M. - Parasite establishment in host communities. *Ecol. Lett.*, 2003, **6**, 837-842.
- Huard R., de Oliveira Lazzarini C., Butler W., van Soelingen D., Ho J. - PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 1637-1650.
- Jackson R., De Lisle G.W., Morris R.S. - A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand. *New Zeal. Vet. J.*, 1995, **43**, 346-352.
- 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.
- Johnson L.K., Liebana E., Nunez A. *et al.* - Histological observations of bovine tuberculosis in lung and lymph node tissues from British deer. *Vet. J.*, 2008, **175**, 409-412.
- Lloyd-Smith J.O., Cross P.C., Briggs C.J. *et al.* - Should we expect population thresholds for wildlife disease? *Trends Ecol. Evol.*, 2005, **20**, 511-519.
- Lugton I., Wilson P., Morris R., Nugent, G. - Epidemiology and pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection of red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand. *New Zeal. Vet. J.*, 1998, **46**, 147-156.
- Martín-Hernando M.P., Höfle U., Vicente J. *et al.* - Lesions associated with *Mycobacterium tuberculosis* complex infection in the European wild boar. *Tuberculosis*, 2007, **87**, 360-367.
- Martín-Hernando M.P., Torres M.J., Aznar J., Negro J.J., Gandía A., Gortázar C. - Distribution of lesions in red and fallow deer naturally infected with *Mycobacterium bovis*. *J. Comp. Pathol.*, 2010, **142**, 43-50.
- Miller R.S. et Sweeney S.J. - *Mycobacterium bovis* (bovine tuberculosis) infection in North American wildlife: current status and opportunities for mitigation of risks of further infection in wildlife populations. *Epidemiol. Infect.*, 2013, **141**, 1357-1370.
- 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.
- Naranjo V., Gortazar C., Vicente J., De la Fuente J. - Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Vet. Microbiol.*, 2008, **127**, 1-9.
- Nugent G. - Maintenance, spillover and spillback transmission of bovine tuberculosis in multi-host wildlife complexes: A New Zealand case study. *Vet. Microbiol.*, 2011, **151**, 34-42.
- OIE - Code sanitaire pour les animaux terrestres. Volume 1. Dispositions générales, 509 pages, Paris, 2010.
- Palmer M.V., Waters W.R., Whipple D.L. - Investigation of the transmission of *Mycobacterium bovis* from deer to cattle through indirect contact. *Am. J. Vet. Res.*, 2004, **65**, 1483-1489.
- Palmer M.V. - *Mycobacterium bovis*: characteristics of wildlife reservoir hosts. *Transbound Emerg. Dis.*, 2013, **60** Suppl 1, 1-13.
- Payne A., Boschirolì M.L., Gueneau E., Moyen J.L., Rambaud T., Dufour B., Gilot-Fromont E., Hars J. - Bovine tuberculosis in Eurasian badgers (*Meles meles*) in France. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2013, **59**, 331-339.
- Payne A. - Rôle de la faune sauvage dans le système multi-hôtes de *Mycobacterium bovis* et risque de transmission entre faune sauvage et bovines. Étude expérimentale en Côte-d'Or.

- Thèse de doctorat universitaire. Université Lyon 1 Claude Bernard. 2014. Sous presse.
- 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.
- Ranjard L., Lejon D.P.H., Mougél C., Schehrer L., Merdinoglu D., Chaussod R. - Sampling strategy in molecular microbial ecology: influence of soil sample size on DNA fingerprinting analysis of fungal and bacterial communities. *Environ. Microbiol.*, 2003, **5**, 1111-1120.
- Rhyan J.C., Spraker T.R. - Emergence of diseases from wildlife reservoirs. *Vet. Pathol.*, 2010, **47**, 34-39.
- Vicente J., Höfle U., Garrido J.M., Fernández-de-Mera I.G., Juste R., Barral M., Gortazar C. - Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 107-119.
- Vicente J., Barasona J.A., Acevedo P. *et al.* - Temporal trend of tuberculosis in wild ungulates from mediterranean Spain. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2013, **60** Suppl 1, 92-103.
- Ward A.I., Smith G.C., Etherington T.R., Delahay R.J. - Estimating the risk of cattle exposure to tuberculosis posed by wild deer relative to badgers in England and Wales. *J. Wildl. Dis.*, 2009, **45**, 1104-1120.
- 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.*, 2008, **163**, 43-47.
- Zuur A.F., Ieno E.N., Walker N.J., Saveliev A.A., Smith G.M. - Mixed Effect Models and Extensions in Ecology with R. 573 pages, Ed. Springer, New York, 2009.



Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier les financeurs de cette étude : le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la pêche, le Conseil régional de Bourgogne, le Conseil général de la Côte-d'Or, la Fédération départementale des chasseurs de Côte-d'Or, le groupement de défense sanitaire de Côte-d'Or, la Fédération nationale des chasseurs et l'ONCFS.

Les auteurs remercient pour leur aide sur le terrain, les assistants de la FDC 21 Julien Philippe et Jonathan Fligny ; les agents du service départemental 21 de l'ONCFS ainsi que Stéphane Barbier et tous les piégeurs et chasseurs bénévoles ayant participé aux captures et aux manipulations des animaux. Nous sommes reconnaissants aux éleveurs ayant accepté l'installation du dispositif de vidéosurveillance sur leur exploitation.

Nous remercions également l'équipe microbiologie du LDCO pour sa contribution dans le travail sur l'excrétion.

Enfin, nous remercions Sophie Chappa et Christophe Ferrier de la direction interrégionale de Bourgogne Franche-Comté de l'ONCFS pour leur aide dans l'exploitation des données.