

## UTILISATION D'UN OUTIL SÉROLOGIQUE POUR ESTIMER L'EXPOSITION DES SANGLIERS À *M. BOVIS* \*

Céline Richomme<sup>1</sup>, Mariana Boadella<sup>2</sup>, Aurélie Courcou<sup>3</sup>, Benoît Durand<sup>3</sup>, Antoine Drapeau<sup>4</sup>,  
Yannick Corde<sup>4</sup>, Jean Hars<sup>5</sup>, Ariane Payne<sup>5,6</sup>, Alexandre Fediaevsky<sup>7</sup> et Maria Laura Boschioli<sup>4</sup>

### RÉSUMÉ

Le sanglier (*Sus scrofa*) est de plus en plus considéré comme un acteur important à prendre en compte dans l'épidémiologie de la tuberculose bovine (TB) ; le suivi de la TB chez cette espèce revêt alors un enjeu important pour établir des programmes globaux de lutte contre cette maladie. Afin d'estimer en France l'exposition des sangliers sauvages au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), un ELISA fondé sur un dérivé de protéine bovine purifiée (PPD) a été utilisé pour tester une sérothèque de 2 080 échantillons provenant d'animaux prélevés à la chasse dans 58 départements entre 2000 et 2010. Deux valeurs seuils ont été utilisées pour l'interprétation diagnostique : le seuil de 0,2, recommandé par le fabricant (spécificité : 96,4 % ; sensibilité : 72,6 %) et le seuil de 0,5 (spécificité : 100 % ; sensibilité : 65 %). Une bonne cohérence spatio-temporelle entre les sangliers séropositifs et les foyers de TB chez les bovins est mise en évidence, en particulier à la valeur seuil de 0,5 (la distance moyenne entre un foyer bovin et les sangliers séropositifs les plus proches étant de 13 km). Au delà de permettre une première description de la séroprévalence globale et de la répartition géographique de l'exposition au MTC des sangliers en France, nos résultats suggèrent que le test ELISA peut être utilisé à une échelle populationnelle comme un premier outil de surveillance de la TB chez les sangliers, suivi d'éventuelles investigations complémentaires combinant examens lésionnels et culture.

**Mots-clés :** tuberculose bovine, épidémiologie, *Mycobacterium bovis*, complexe *Mycobacterium tuberculosis*, sérologie, *Sus scrofa*, faune sauvage, sanglier, zoonose.

### SUMMARY

The Eurasian wild boar (*Sus scrofa*) is increasingly considered as a significant actor in the epidemiology of animal tuberculosis (TB). Therefore, monitoring TB in wild boar becomes a key tool in the development of comprehensive control schemes for this disease. To estimate the exposure of free living wild boars to the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) in France, a bovine-purified protein derivative (PPD) based ELISA was used to test 2,080 archived serum samples from hunter-harvested animals in 58 French "départements". Two cut-off values were used for diagnostic interpretation: 0.2, recommended by the manufacturer (specificity: 96.4%; sensitivity: 72.6%), and 0.5 (specificity: 100%; sensitivity: 64%).

.../..

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

<sup>1</sup> Anses, Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy, Unité de surveillance et d'éco-épidémiologie des animaux sauvages, Malzéville, France

<sup>2</sup> SaBio-IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ciudad-Real, Espagne

<sup>3</sup> Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Unité d'épidémiologie, Maisons-Alfort, France

<sup>4</sup> Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, LNR tuberculose, Maisons-Alfort, France

<sup>5</sup> Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), Direction des recherches, Unité sanitaire de la faune, Gières, France

<sup>6</sup> CNRS, UMR 5558 Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, Université de Lyon, Villeurbanne, France

<sup>7</sup> Direction générale de l'alimentation (DGAI), Bureau de santé animale, Paris, France

.../..

A good consistence between seropositive wild boar and TB outbreaks in cattle was found, especially at the 0.5 cut-off value (the mean distance to the nearest cattle TB outbreak was 13km for seropositive wild boars). Our results provide a first description of the global seroprevalence and geographic distribution of MTC contact in wild boars in France but they also suggest that the ELISA could be used as a first screening tool to conduct TB surveillance in wild boars at a population level, to be completed, in case of seropositivity, by investigations combining pathology and culture.

**Keywords:** Bovine tuberculosis, Epidemiology, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* complex, Serology, *Sus scrofa*, Wildlife, Wild boar, Zoonosis.




---

## I - INTRODUCTION

---

La tuberculose bovine (TB) est une maladie zoonotique causée par *Mycobacterium bovis*, une des bactéries membres du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTC). Les membres du MTC peuvent infecter une large gamme d'hôtes, y compris sauvages. En particulier pour *M. bovis*, différentes espèces sauvages ont été identifiées comme des réservoirs de TB dans les différentes régions du monde, devenant alors source d'infection pour d'autres espèces, notamment le bétail, et ainsi entravant l'assainissement des troupeaux bovins [Corner, 2006]. En Europe, les ongulés sauvages (cervidés, sangliers) sont en expansion continue à la fois géographiquement et numériquement, favorisés notamment par les pratiques cynégétiques et agricoles [Hartley et Gill, 2010 ; Acevedo *et al.*, 2011]. Cette expansion démographique accroît l'inquiétude générale concernant le contrôle des maladies à l'interface faune sauvage - bétail [Gortazar *et al.*, 2007]. Dans ce contexte, le suivi de la TB dans la faune sauvage devient un outil essentiel pour l'établissement de programmes de lutte [Boadella *et al.*, 2011a].

En décembre 2000, la Commission européenne a déclaré la France officiellement indemne de TB. Néanmoins, plusieurs foyers bovins sont encore détectés chaque année, en particulier en Côte-

d'Or, dans le Sud-Ouest (Dordogne, Charente, Pyrénées-Atlantiques), ou en Camargue (figure 1). Les premiers cas de TB dans la faune sauvage ont été détectés en 2001 en France chez le Cerf (*Cervus elaphus*) et le Sanglier (*Sus scrofa*) dans la forêt de Brotonne - Mauny (Normandie), zone qui a la particularité d'être circonscrite par une autoroute au Sud et une boucle de la Seine au Nord. En 2006, la prévalence de la tuberculose dans cette forêt atteignait 24 % chez les cerfs, qui semblaient agir comme un réservoir, et 42 % chez les sangliers qui semblaient agir comme un hôte de liaison [Zanella *et al.*, 2008a et 2008b]. En 2003, un cerf a également été trouvé infecté en Côte-d'Or où des cas groupés de sangliers et de blaireaux (*Meles meles*) ont été régulièrement identifiés autour de foyers bovins depuis 2007 (Payne *et al.*, 2012). Ailleurs en France, des cas de tuberculose sporadiques des sangliers et/ou des blaireaux sont régulièrement détectés toujours à proximité des foyers de tuberculose du bétail. De plus, les génotypes des souches de *M. bovis* infectant les bovins et la faune sauvage sont identiques [Zanella *et al.*, 2008a ; Richomme *et al.*, 2010], ce qui indique clairement un lien épidémiologique entre les bovins, l'environnement et la faune, impliqués dans un cycle de transmission commun [Anses, 2011].

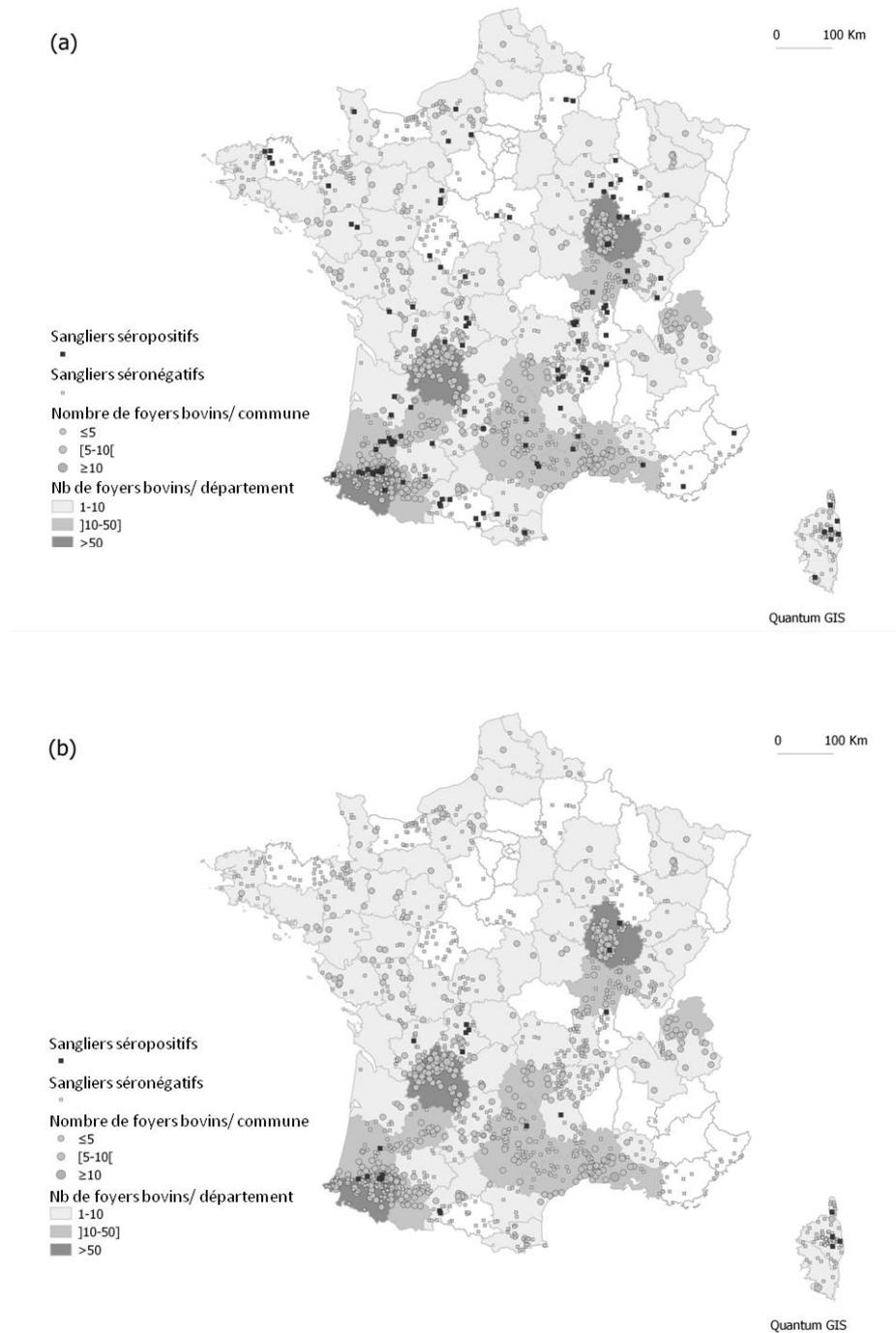
Figure 1

**Répartition des sangliers testés (centre de la commune d'échantillonnage) :**

carré gris = sanglier séronégatif ;

carré **noir** = sanglier séropositif (a) lors de l'utilisation du seuil 0,2 et (b) lors de l'utilisation du seuil 0,5.

Les cercles représentent le nombre cumulé par commune des foyers de tuberculose chez les bovins entre 2000 et 2010 (diamètre proportionnel au nombre de foyers au cours de la période, de 1 à 13) et le grisé des départements le nombre cumulé de foyers de tuberculose détectés chez les bovins dans la même période (département en blanc : aucun foyer entre 2000 et 2010 ; intensité de gris proportionnelle au nombre de foyers de 1 à 141).



Dans certaines conditions écologiques, le sanglier peut être un réservoir important de TB comme démontré dans les habitats méditerranéens du sud-ouest de l'Espagne, où certains facteurs favorisants sont présents : les sécheresses estivales qui favorisent l'agrégation autour de points d'eau, mais aussi l'alimentation et l'abreuvement artificiels, et les densités importantes de sangliers comme celles observées dans des parcs de chasse [Naranjo *et al.*, 2006 ; Gortazar *et al.*, 2006 et 2012]. Dans de tels contextes épidémiologiques, la prévalence de TB chez les suidés sauvages peut alors être élevée (46 à 52 %) [Vicente *et al.*, 2007] et il semble que le sanglier puisse jouer un rôle de diffuseur de la TB. En effet, dans les autres parties de l'Espagne, les populations de sangliers sont également en augmentation [Acevedo *et al.*, 2006], et les premiers cas d'infection de sangliers par *M. bovis* ont récemment été signalés dans les Asturies [Mentaberre *et al.*, 2010 ; Marreros *et al.*, 2012], suggérant une expansion possible vers le nord de la TB due à cette espèce. En outre, Nugent *et al.* [2002] ont souligné que le sanglier *Sus scrofa* était un bon indicateur de la contamination de l'environnement par la TB. Compte tenu de son rôle possible de réservoir, d'une part, et de sentinelle, d'autre part, le développement de nouveaux outils permettant de suivre la tuberculose dans la faune sauvage et notamment

le sanglier est devenu crucial [Boadella *et al.*, 2011a].

Un ELISA indirect utilisant un dérivé de protéine bovine purifiée (bPPD) a récemment été mis au point en Espagne afin de mesurer l'exposition des sangliers aux membres du complexe MTC [Aurtenetxe *et al.*, 2008 ; Boadella *et al.*, 2011b]. En conditions expérimentales, ce test ELISA est positivement corrélé aux lésions de TB chez les sangliers [Garrido *et al.*, 2011] et apparaît comme un outil peu coûteux pour le suivi de l'exposition (voire de l'infection) à la TB de cette espèce [Boadella *et al.*, 2011c], utilisable y compris à partir d'échantillons de sang de qualité moyenne (sang hémolysé par exemple).

Aussi, le premier but de la présente étude était d'évaluer rétrospectivement l'exposition au complexe MTC des sangliers en France en éprouvant le test ELISA mentionné ci-dessus sur des échantillons provenant de différentes sérothèques. Le deuxième objectif était de déterminer si cette exposition pouvait être mise en relation avec un indicateur de la présence de *M. bovis*, l'apparition de foyers bovins de TB, afin d'évaluer si le test ELISA pourrait être utilisé comme un outil de surveillance de la TB chez les sangliers à l'échelle populationnelle.

---

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

---

### 1. ÉCHANTILLONS DE SANGLIER

Les sérums de 2 080 sangliers chassés ont été analysés. Ils ont été collectés lors d'enquêtes précédentes concernant l'étude d'autres maladies dans 58 des 96 départements français continentaux et sur l'île de Corse : 1 653 collectés entre 2000 et 2004 dans 55 départements au cours de l'enquête sérologique nationale *Brucella*, *Trichinella* et maladie d'Aujeszky (programme Fédérations des chasseurs - ONCFS - DGAI - Anses ; un à 105 échantillons par département) [Rossi *et al.*, 2008] ; 427 collectés en 2009 et 2010, dont 285 dans cinq départements continentaux pour une étude sur la trichinellose (programme ONCFS - FDC - DGAI - Anses ; 21 à 108 échantillons par département) [Payne *et al.*, 2011] et 142 dans les deux départements de la Corse pour une enquête sur l'hépatite E (programme Anses - INRA ; 13 et 129 échantillons) [Pavio, non publié]. Seuls quatre départements présentaient des échantillons

prélevés aux deux périodes (Aveyron, Ille-et-Vilaine, Pyrénées-Atlantiques, Haute-Corse) (n = 451). Tous les échantillons de sérum étaient stockés à -20 ° C jusqu'à la présente étude.

La commune d'échantillonnage était connue pour 2 008 échantillons, et le sexe pour 2 006 animaux (1 063 mâles et 943 femelles). Les classes d'âge de signification biologique étaient connues pour 2 008 animaux : les individus de moins de douze mois ont été classés comme juvéniles (n = 655) et les autres comme adultes (n = 1 363).

### 2. SÉROLOGIE

Les échantillons de sérum, qui avaient subi moins de cinq cycles de gel - dégel [Boadella *et al.*, 2011d], ont été testés à l'aide d'un test ELISA indirect utilisant un dérivé de protéine bovine purifiée (bPPD) en suivant les instructions du

fabricant (TB-ELISA, Vacunek, Espagne). Onze sangliers naturellement infectés par *M. bovis* (confirmés par culture) et auparavant testés à l'aide de l'ELISA ont été utilisés comme contrôles positifs [Boadella *et al.*, 2011b]. Les résultats ont été exprimés selon un indice ELISA (EI) qui a été calculé en utilisant la formule suivante indiquée par le fabricant :

$$\text{EI échantillon} = \frac{\text{DO échantillon (405nm-450nm)}}{\text{DO moyenne du contrôle positif (405nm-450nm)}}$$

Deux valeurs seuils ont été utilisées pour interpréter les résultats : 0,2, le seuil recommandé par le fabricant (spécificité: 96,4 %; sensibilité: 72,6 %), et 0,5, seuil obtenu à l'aide de la courbe ROC [Aurtenetxe *et al.*, 2008] et permettant de cibler une spécificité de 100 % (sensibilité : 65 %).

### 3. ANALYSE DES DONNÉES

Les données des deux périodes (2000-2004 et 2009-2010) ont été fusionnées après vérification que la séroprévalence ne différait pas de manière significative d'une période à l'autre pour les départements où des échantillons avaient été recueillis au cours de deux périodes. Les séroprévalences apparentes et vraies (cette dernière prenant en compte la sensibilité et la spécificité du test ELISA aux seuils choisis) ont été calculées. La méthode exacte de Sterne a été utilisée pour estimer les intervalles de confiance à 95 % des prévalences apparentes et vraies (IC à 95 %) [Reiczigel *et al.*, 2010]. Une recherche des facteurs intrinsèques modulant le niveau d'exposition des sangliers au MTC (classe d'âge et sexe) a été réalisée en utilisant le test de Fischer.

Nous avons également évalué si l'exposition au MTC des sangliers était influencée par un autre indicateur de la présence de bactéries du MTC, à savoir les foyers bovins à *M. bovis* déclarés ( $n = 803$  pour la période 2000-2010, données fournis par le ministère de l'agriculture de l'agroalimentaire et de la forêt et le laboratoire national de référence tuberculose). Pour chaque sanglier, nous avons calculé la distance euclidienne entre le centre de la commune du sanglier (position spatiale la plus fine disponible) et le centre de la commune du plus proche foyer bovin sur la période 2000-2010, ci-après dénommée d-foyer. La d-foyer a été étudiée en utilisant une méthode de bootstrap. L'hypothèse nulle était que le statut sérologique des animaux était indépendant de leur d-foyer. L'analyse a porté sur la d-foyer moyenne chez les sangliers séropositifs. La valeur observée de cette statistique d'intérêt a été calculée. Une procédure de ré-échantillonnage a ensuite été utilisée pour simuler des échantillons à partir des données (permutation aléatoire des résultats sérologiques de sanglier), sous l'hypothèse nulle. Un millier d'échantillons bootstrap ont été générés, et, pour chacun d'entre eux, la statistique d'intérêt a été calculée. La distribution correspondante a finalement été examinée pour déterminer la valeur  $p$  empirique du test d'hypothèse nulle : cette valeur de  $p$  était la proportion des échantillons (simulé sous l'hypothèse nulle) pour laquelle la statistique d'intérêt est inférieure à la valeur réelle (calculée à partir des données).

Les tests statistiques ont été considérés comme significatifs si la valeur  $p$  était  $<0,05$ . Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R [R development Core Team, 2011], le calcul des prévalences vraies utilisant la fonction "epi.prev" (Package R EpiR).

---

## III - RÉSULTATS

---

La séropositivité des sangliers échantillonnés dans les différents départements aux deux périodes ne diffère pas significativement de la période 1 à la période 2 ( $p > 0,05$  pour chaque département - Aveyron, Ille-et-Vilaine, Pyrénées-Atlantiques, Haute-Corse - et pour les deux seuils).

➤ Au seuil de 0,2, 163 sangliers avaient une réaction positive ELISA, indiquant une exposition globale apparente des sangliers au MTC de 7,8 % (IC<sub>95%</sub>: 6,7-9,1 %) et une séroprévalence vraie de

6,2 % (IC<sub>95%</sub>: 4,6-7,9 %). Les sangliers séropositifs provenaient de 44 des 58 départements échantillonnés (76 %). Sept de ces départements (16 %) étaient indemnes de foyers bovins de TB sur la même période. Aucune différence significative n'a été observée entre la séropositivité chez les juvéniles et les adultes ( $p = 0,289$ ), ou entre les mâles et les femelles ( $p = 0,154$ ). La figure 1.a montre la répartition spatiale des sangliers séropositifs et la répartition des foyers de bovins entre 2000 et 2010.

La d-foyer pour les sangliers séropositifs variait de 0 à 103 km (moyenne = 24 km, médiane = 18 km) et de 0 à 142 km pour les sangliers séronégatifs (moyenne = 27 km, médiane = 22 km) (figure 2. a).

La d-foyer moyenne chez les sangliers séropositifs était significativement plus faible que celle attendue sous l'hypothèse nulle (analyse par bootstrap,  $p = 0,013$ ) (figure 3.a).

➤ Au seuil de 0,5, 30 sangliers présentaient une réaction positive ELISA, indiquant une exposition globale apparente des sangliers au MTC de 1,4 % (IC<sub>95</sub>%: 1-2,1 %) et une séoprévalence vraie de 2,2 % (IC<sub>95</sub>%: 1,5-3,2 %) pour l'ensemble des zones étudiées. Les sangliers séropositifs provenaient de 12 des 58 départements échantillonnés (21 %). Excepté le Rhône, tous ces départements

présentaient au moins un foyer bovin depuis 2000. Aucune différence significative n'a été observée entre la séropositivité chez les jeunes et chez les adultes ( $p = 0,076$ ) ou entre les mâles et les femelles ( $p = 0,193$ ). La figure 1.b montre la répartition spatiale des sangliers séropositifs superposée à la répartition des foyers bovins entre 2000 et 2010.

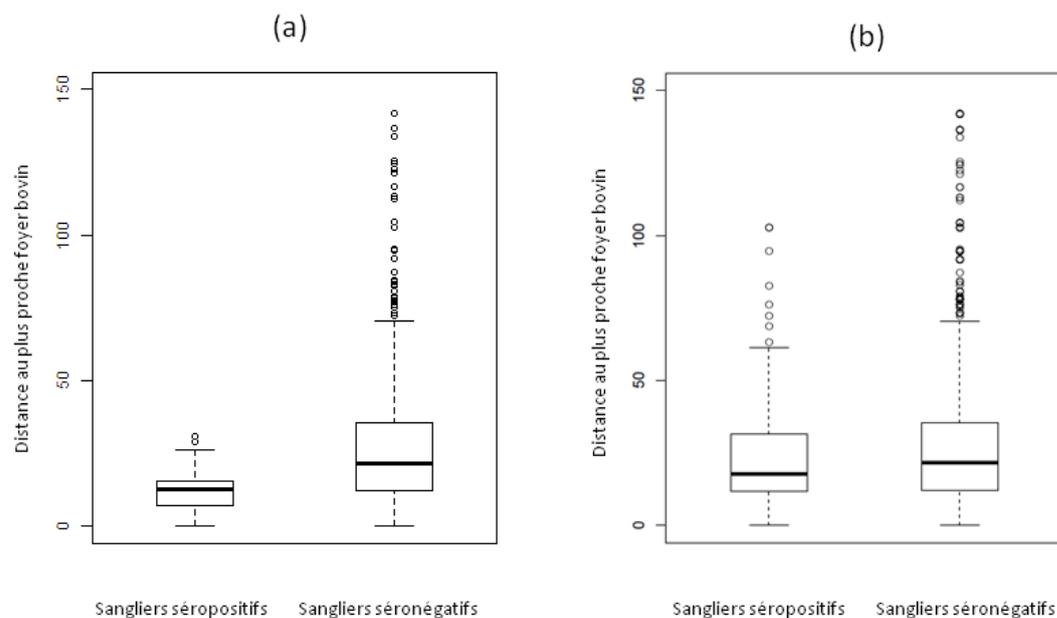
La d-foyer pour les sangliers séropositifs variait de 0 à 31 km (moyenne = 13 km, médiane = 12 km) et de 0 à 142 km pour les sangliers séronégatifs (moyenne = 27 km, médiane = 22 km) (figure 2. b).

La d-foyer moyenne chez les sangliers séropositifs était significativement plus faible que celle attendue sous l'hypothèse nulle (analyse par bootstrap,  $p = 0,001$ ) (figure 3.b).

Figure 2

**Distances entre un sanglier et le plus proche foyer de tuberculose chez des bovins**

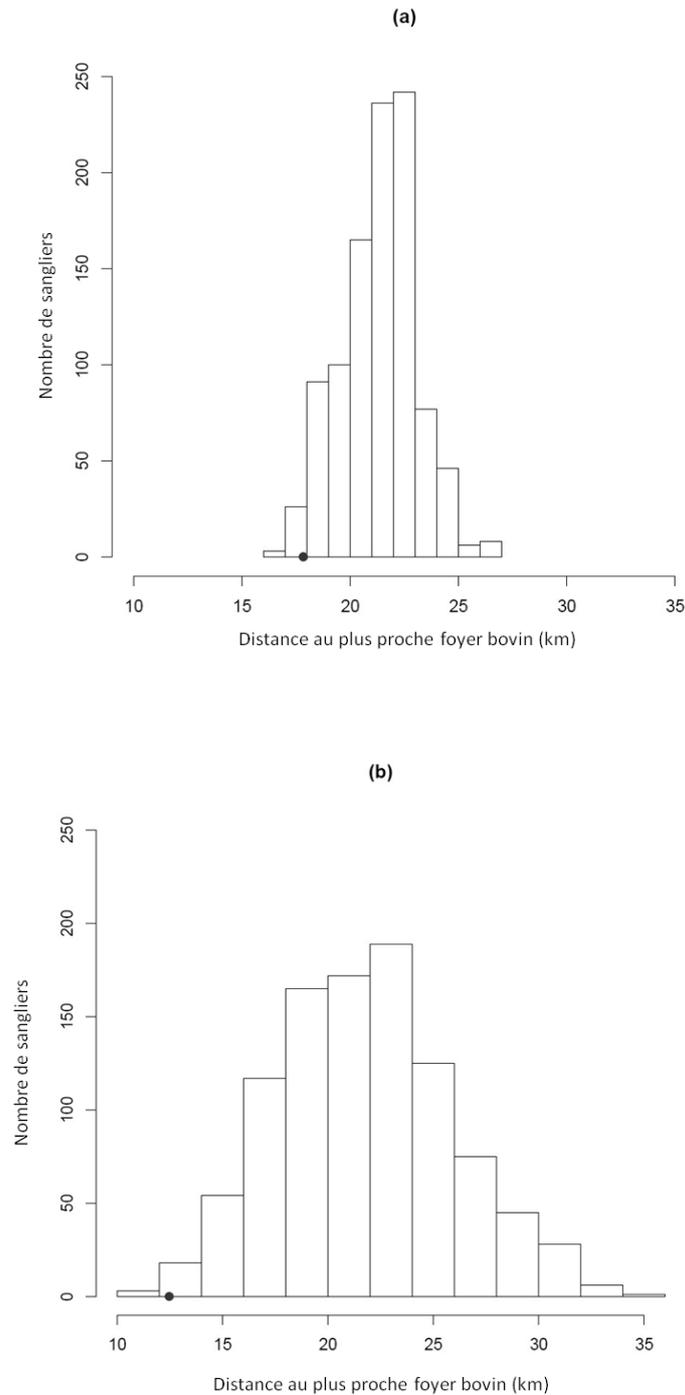
(a) seuil bPPD ELISA: 0,2 - (b) seuil bPPD ELISA : 0,5



**Figure 3****Répartition des d-foyer moyennes (en kilomètres) pour les sangliers séropositifs**

(a) en utilisant le seuil 0,2, et (b) en utilisant le seuil 0,5.

Le point noir est la d-foyer moyenne observée. L'histogramme représente la distribution des d-foyer simulées sous l'hypothèse nulle (pas de relation entre la séropositivité et la d-foyer).



---

## IV - DISCUSSION

---

La présente étude a permis pour la première fois en France la description de la répartition géographique de l'exposition des sangliers au MTC à une grande échelle. L'analyse des résultats montre que cette exposition est compatible avec la présence des foyers bovins, en particulier lors de l'interprétation des densités optiques au seuil de 0,5. En outre, en utilisant ce seuil, la distance moyenne (respectivement la médiane) entre un sanglier séropositif et le plus proche foyer bovin est de 13 km (12 km) ce qui est compatible avec les déplacements quotidiens observés chez le sanglier (de 1 à 16 km [Lemel *et al.*, 2003]) ou leurs distances de dispersion (pour les mâles 4,90 +/- 5,65 km, pouvant atteindre 38 km pour certains individus selon [Prévot et Licoppe, 2013], ou 16,6 km selon [Truvé et Lemel, 2003])

Les échantillons utilisés pour la présente étude n'ont pas été collectés dans le cadre d'enquêtes sur la tuberculose et ne couvrent pas l'ensemble du pays. En particulier, certains départements comme la Dordogne, où des foyers bovins et des cas dans la faune sauvage sont détectés régulièrement [Payne *et al.*, 2012], ne sont pas inclus. Bien que nos résultats semblent montrer une certaine agrégation des sangliers séropositifs, le manque d'homogénéité des plans d'échantillonnage mis à profit dans cette étude ne nous permet pas d'effectuer une analyse de recherche d'agrégat à partir des données de séropositivité obtenues. De plus, nos résultats ne peuvent être considérés ni comme représentatifs de l'exposition réelle des sangliers au MTC, ni comme reflétant l'ensemble de la situation française. Toutefois, ils soulignent que les sangliers sont exposés au MTC depuis au moins l'année 2000 dans des zones où la TB est encore présente ou bien est réapparue chez les bovins. La plupart de ces zones correspondent aux endroits où l'infection a d'ailleurs été découverte chez les animaux sauvages, principalement les sangliers, les cerfs et/ou les blaireaux, au cours des 10 dernières années [Payne *et al.*, 2008 ; Hars *et al.*, 2012]. En outre, dans ces régions caractérisées par une importante production de bovins allaitants, l'élevage est essentiellement extensif et caractérisé par des séjours longs en pâture. Cette situation augmente les risques de contacts avec la faune sauvage sur les pâtures et de contamination interspécifique.

Le seuil d'interprétation de l'indice de DO recommandé par le fabricant du kit ELISA - 0,2 - a été validé à partir de données obtenues lors d'études espagnoles sur la circulation de *M. bovis* dans les populations de sangliers sauvages. Dans ce contexte, il fournit une sensibilité de 72,6 % et une spécificité de 96,4 %, et permet une détection précoce de la tuberculose [Aurtenetxe *et al.*, 2008]. Dans une étude espagnole récente utilisant ce seuil, des animaux séropositifs ont été trouvés dans des zones qui étaient auparavant considérées comme exemptes de TB (région atlantique au Nord) [Boadella *et al.*, 2011c]. En conséquence, la surveillance a été renforcée dans ces domaines, et les premiers cas confirmés de TB (par anatomo-pathologie et culture) ont été découverts, mettant en évidence qu'une surveillance plus intensive reposant sur la sérologie comme outil de diagnostic de première intention est susceptible de révéler une extension de la distribution de la TB [Gortazar C., communication personnelle]. Ces études suggèrent que dans le contexte épidémiologique espagnol, l'ELISA bPPD (au seuil de 0,2) peut être utilisé comme un indicateur de contact des sangliers avec MTC et comme un outil pour déterminer les zones du centre-sud de la péninsule ibérique où la surveillance de la tuberculose dans la faune doit être approfondie pour identifier la bactérie circulante. En effet, certains résultats séropositifs peuvent être dus à une exposition à d'autres bactéries du MTC, comme *M. microti*, et non *M. bovis*. En Espagne, *M. microti* n'a jamais été signalé chez des animaux sauvages ou domestiques jusqu'à présent. Dans la présente étude, l'utilisation du seuil de 0,2 mettrait en évidence 162 sangliers séropositifs (séroprévalence vraie de 5,8 % [4,2-7,6 %]). Ils provenaient de 76 % des départements étudiés (44/58) dont 16 % (7) n'avaient pas de cas de TB détecté chez les bovins dans la même période. Toutefois, certains d'entre eux ont montré une séroprévalence élevée chez les sangliers. Par exemple, la séroprévalence était de 15,4 % au seuil 0,2 dans les Côtes-d'Armor, département indemne de TB. Or, dans les mêmes communes de ce département où les sangliers de la présente étude ont été prélevés, plusieurs truies, une loutre (*Lutra lutra*) et deux chats ont été trouvés infectés par *M. microti* ces dernières années (ML Boschiroli, communication personnelle). La séropositivité au MTC chez les sangliers dans ce département aurait donc besoin d'être approfondie afin d'évaluer si

nos résultats sont une première indication de circulation de *M. bovis* ou bien une réactivité à d'autres membres du MTC.

Afin de maximiser la spécificité (100 %), nous avons également interprété les résultats au seuil de 0,5. Cela a conduit à 30 sangliers séropositifs, tous échantillonnés à moins de 31 km d'un foyer bovin, et présentant donc une meilleure consistance avec la TB en élevage. En particulier, les sangliers séropositifs au seuil 0,2 dans les Côtes-d'Armor ne sont plus détectés lorsque que le seuil 0,5 est utilisé. Cependant, même à ce seuil plus élevé, nous ne pouvons pas garantir que la réaction positive est systématiquement attribuable à une exposition à *M. bovis*. En effet, deux des 10 porcelets prélevés dans une ferme des Côtes-d'Armor, où un récent foyer de *M. microti* a été découvert (détection de lésions et identification directe de l'agent chez deux truies infectées), ont présenté une réaction sérologique ELISA bPPD avec un indice > 0,5 (IE = 0,7 et 0,8 respectivement ; ML Boschioli, communication personnelle). On connaît mal la production d'anticorps contre *M. microti* chez le sanglier, mais cette bactérie est connue pour induire des réponses positives à la tuberculose avec des tests multi-antigènes (MAPIA) ou des tests rapides (RT) chez les camélidés [Lyashchenko *et al.*, 2007], ou encore pour produire des réponses positives à l'interféron (IFN bPPD) ou au test rapide (RT) chez les chats domestiques infectés par *M. microti* [Rhodes *et al.*, 2011]. Comme précédemment discuté, des études permettant de préciser la réactivité de l'ELISA à *M. microti* et/ou le développement d'un test spécifique pour *M. bovis* chez le sanglier seraient nécessaires.

Les résultats de la présente étude ouvrent toutefois des perspectives prometteuses pour la surveillance de la TB dans l'environnement et chez

le sanglier à l'échelle des populations grâce à un outil simple, peu coûteux et en s'affranchissant du biais observateur (contrairement à la surveillance fondée sur la détection de lésions évocatrices de TB). En effet, étant donné que la séropositivité chez le sanglier apparaît significativement liée aux foyers bovins, il peut être considéré comme un bon indicateur de l'exposition à *M. bovis*, en particulier lors de l'utilisation du seuil 0,5. Dans ces conditions, le test ELISA pourrait être utilisé comme un premier outil de dépistage à grande échelle en matière de surveillance de la TB dans les populations de suidés sauvages.

Un programme national de surveillance de la tuberculose dans la faune sauvage, dénommé Sylvatub, a récemment été lancé et comprend notamment des volets de surveillance ciblée dans les départements infectés de TB dans la faune sauvage [NS DGAL/SDSPA/N2011-8214, 20 Septembre 2011]. En adossant une collecte d'échantillons de sang à ce programme, nous allons pouvoir obtenir des résultats sérologiques chez les sangliers et les relier à la présence de macrolésions anatomo-pathologiques et de l'infection (confirmation microbiologique) chez les mêmes individus. L'emploi de ces échantillons sera utile pour affiner la connaissance des caractéristiques de l'ELISA chez les sangliers sauvages et adapter les valeurs de seuil au contexte épidémiologique de la région étudiée. A terme, le test ELISA pourrait également être utilisé pour estimer la présence de l'infection dans des populations captives ou clôturées (élevage, enclos de chasse), nourries artificiellement et/ou en surdensité et donc potentiellement à risque. La mise en évidence de résultats positifs en ELISA pourrait alors conduire à des investigations détaillées combinant anatomopathologie et culture bactérienne.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

Acevedo P., Escudero M.A., Muñoz R., Gortazar C. - Factors affecting wild boar abundance across an environmental gradient in Spain. *Acta Theriologica*, 2006, **51**, 327-336.

Acevedo P., Farfán M.Á., Márquez A.L., Delibes-Mateos M., Real R., Vargas J.M. - Past, present and future of wild ungulates in relation to changes in land use. *Landscape Ecology*, 2011, **26**, 19-31.

ANSES - Tuberculose bovine et faune sauvage. Rapport, 2011.

Aurtenetxe O., Barral M., Vicente J., de la Fuente J., Gortazar C., Juste R.A. - Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against *Mycobacterium bovis* in European wild boar. *BMC Veterinary Research*, 2008, **4**, 43.

- Boadella M., Gortazar C., Acevedo P., Carta T., Martín-Hernando M.P., de la Fuente J., Vicente J. - Six recommendations for improving monitoring of diseases shared with wildlife: examples regarding mycobacterial infections in Spain. *European Journal of Wildlife Research*, 2011a, **57**, 697-706.
- Boadella M., Lyashchenko K., Greenwald R., Esfandiari J., Jaroso R., Carta T., Garrido J.M., Vicente J., de la Fuente J., Gortázar C. - Serologic tests for detecting antibodies against *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Eurasian wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2011b, **23**, 77-83.
- Boadella M., Acevedo P., Vicente J., Mentaberre G., Balseiro A., Arnal M., Martínez D., García-Bocanegra I., Casal C., Álvarez J., Oleaga Á., Lavín S., Muñoz M., Sáez-Llorente J.L., de la Fuente J., Gortázar C. - Spatio-temporal trends of Iberian wild boar contact with *Mycobacterium tuberculosis* complex detected by ELISA. *EcoHealth*, 2011, **8**, 478-484.
- Boadella M., Gortazar C. - Effect of haemolysis and repeated freeze-thawing cycles on wild boar serum antibody testing by ELISA. *BMC Research Notes*, 2011, **4**, 498.
- Corner L.A.L. - The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: How to assess the risk. *Veterinary Microbiology*, 2006, **112**, 303-312.
- Garrido J.M., Sevilla I.A., Beltrán-Beck B., Minguijón E., Ballesteros C., Galindo R.C., Boadella M., Lyashchenko K.P., Romero B., Geijo M.V., Ruiz-Fons F., Aranaz A., Juste R.A., Vicente J., de la Fuente J., Gortázar C. - Protection against tuberculosis in Eurasian wild boar vaccinated with heat-inactivated, 2011, *Mycobacterium bovis*. *PLoS ONE* 6: e24905.
- Gortazar C., Acevedo P., Ruiz-Fons F., Vicente J. - Disease risks and overabundance of game species. *European Journal of Wildlife Research*, 2006, **52**, 81-87.
- Gortazar C., Delahay R., McDonald R., Boadella M., Wilson G., Gavier-Widen D., Acevedo P. - The status of tuberculosis in European mammals. *Mammal Review*, 2012, **42**, 193-206.
- Gortazar C., Ferroglio E., Hofle U., Frolich K., Vicente J. - Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *European Journal of Wildlife Research*, 2007, **53**, 241-256.
- Hars J., Richomme C., Rivière J., Faure E., Boschioli M.L. - Ten years of surveillance of bovine tuberculosis in wildlife in France. Inventory and prospects. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* DGAL/Anses, 2012, **52**, 7-8.
- Hartley M., Gill E. - Assessment and mitigation processes for disease risks associated with wildlife management and conservation interventions. *Veterinary Record*, 2010, **166**, 487-490.
- Lemel J., Truvé J., Söderberg B. - Variation in ranging and activity behaviour of European wild boar *Sus scrofa* in Sweden. *Wildlife Biology*, 2003, **9**, 29-36.
- Lyashchenko K.P., Greenwald R., Esfandiari J., Meylan M., Burri J.H., Zanolari P. - Antibody responses in New World camelids with tuberculosis caused by *Mycobacterium microti*. *Veterinary Microbiology*, 2007, **125**, 265-273.
- Marreros N., Balseiro A., Isabel M., Gortázar C. - Tuberculosis in wild boar (*Sus scrofa*) from Asturias, a region of northern Spain with atlantic climate, 2012, 23-27 July, Lyon.
- Mentaberre G., Serrano E., Velarde R., Marco I., Lavín S., Mateos A., De Juan L., Domínguez L., Olivé X., Romeva J. - Absence of TB in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) in a high-risk area. *Veterinary Record*, 2010, **166**, 700.
- 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. *Veterinary microbiology*, 2008, **127**, 1-9.
- Nugent G., Whitford J., Young N. - Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis*. *Journal of Wildlife Diseases*, 2002, **38**, 665-677.
- Payne A., Boschioli 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. *European Journal of Wildlife Research*, 2012, **44**, 1-9.
- Payne A., Rossi S., Lacour S., Vallee I., Garin-Bastuji B., Simon G., Herve S., Pavio N., Richomme C., Dunoyer C., Bronner A., Hars J. - Health report on wild boar focusing trichinosis, Aujeszky's disease, brucellosis, hepatitis E and swine influenza viruses in France. *Bulletin*

*épidémiologique, santé animale et alimentation*  
DGAL/Anses, 2011, **44**, 2-8.

- Prévot C., Licoppe A. - Comparing red deer (*Cervus elaphus* L.) and wild boar (*Sus scrofa* L.) dispersal patterns in southern Belgium. *European Journal of Wildlife Research*, 2013, 1-9.
- R development Core Team - R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing; 2011; <http://www.R-project.org>.
- Reiczigel J., Földi J., Ózsvári L. - Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiology and Infection*, 2010, **138**, 1674-1678.
- Rhodes S.G., Gunn-Moore D., Boschioli M.L., Schiller I., Esfandiari J., Greenwald R., Lyashchenko K.P. - Comparative study of IFN $\gamma$  and antibody tests for feline tuberculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2011, **144**, 129-134.
- Richomme C., Boschioli M.L., Hars J., Casabianca F., Ducrot C. - Bovine tuberculosis in livestock and wild boar on the Mediterranean Island, Corsica. *Journal of Wildlife Diseases*, 2010, **46**, 627-631.
- Rossi S., Hars J., Garin-Bastuji B., Le Potier M.F., Boireau P., Aubry P., Hattenberger A.M., Louguet Y., Toma B., Boue F. - Résultats de l'enquête nationale sérologique menée chez le sanglier sauvage (2000-2004). *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* DGAL/Afssa, 2008, **29**, 5-7.
- Truvé J., Lemel J. - Timing and distance of natal dispersal for wild boar *Sus scrofa* in Sweden. *Wildlife Biology*, 2003, **9**, 51-57.
- Vicente J., Hofle U., Garrido J.M., Fernandez-de-Mera I.G., Acevedo P., Juste R., Barral M., Gortazar C. - Risk factors associated with the prevalence of tuberculosis-like lesions in fenced wild boar and red deer in south central Spain. *Veterinary Research*, 2007, **38**, 451-464.
- Zanella G., Durand B., Hars J., Moutou F., Garin-Bastuji B., Duvauchelle A., Ferme M., Karoui C., Boschioli M.L. - *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases*, 2008, **44**, 99-108.
- Zanella G., Duvauchelle A., Hars J., Moutou F., Boschioli M.L., Durand B. - Patterns of lesions of bovine tuberculosis in wild red deer and wild boar. *Veterinary Record*, 2008, **163**, 43-47.



## Remerciements

Les auteurs remercient la DGAL pour le financement de la collecte d'échantillons, l'ONCFS et les fédérations de chasse pour la collecte d'échantillons en France continentale, Oscar Maestrini (INRA, Corte) et Nicole Pavio (Anses) pour la collecte des échantillons en Corse. Ils remercient également Aurore Palisson pour sa contribution à la compilation des données de foyers bovins et Christian Gortazar pour ses précieux commentaires sur le manuscrit. L'IREC remercie enfin le projet européen Aphaea (EMIDA ERA-NET).