

## MYCOBACTERIUM MICROTI, UN AGENT TUBERCULEUX MÉCONNU \*

Michelet Lorraine<sup>1</sup>, de Cruz Krystel, Karoui Claudine, Hénault Sylvie et Boschioli Maria Laura



### RÉSUMÉ

Nous présentons une étude rétrospective réalisée au Laboratoire national de référence Tuberculose sur des données des 15 dernières années concernant *Mycobacterium microti*, agent de la tuberculose des petits rongeurs. Entre 2002 et 2016, 103 cas chez des animaux d'une grande variété d'espèces domestiques et sauvages ont été identifiés en France, dont 68 ces deux dernières années. Cette augmentation est principalement due à la confirmation des cas par des méthodes moléculaires utilisées pour le diagnostic de la tuberculose animale en France. Tout comme pour *M. bovis* et la tuberculose bovine, nous avons constaté une large répartition géographique de *M. microti* avec une localisation très marquée de certains génotypes par région. Le nombre important de cas rapportés ces dernières années suggère que la prévalence des infections avec ce pathogène pourrait avoir été sous-estimée jusqu'à présent. Par ailleurs, étant donné le potentiel zoonotique de *M. microti*, le risque d'exposition pour les populations humaines serait également à prendre en compte dans le futur. Une surveillance accrue de la tuberculose animale et humaine, fondée sur des outils moléculaires, pourrait aider à comprendre l'épidémiologie de l'infection due à cette mycobactérie.

**Mots-clés :** *Mycobacterium microti*, diagnostic, tuberculose bovine, surveillance.

### ABSTRACT

*A retrospective analysis was performed by the national reference laboratory for Tuberculosis on data concerning Mycobacterium microti, the causative agent of tuberculosis on small rodent, in the last 15 years. Between 2002 and 2016, 103 cases were identified, of which 68 in the last 2 years. This increase is mainly due to the confirmation of cases by molecular methods used for diagnosis of animal tuberculosis in France. As for M. bovis and bovine tuberculosis, M. microti has a wide geographic distribution with strong regionalization of some genotypes and, also, a great variety of domestic and wild hosts. The increasing number of cases in the last years suggests that the prevalence of M. microti infection may have been underestimated. Furthermore, due to the zoonotic potential of this bacterium, the risk of exposure for the human population should also be taken into account in the future. An improved surveillance of TB in animals and humans, based on molecular methods, can contribute to a better understanding of the epidemiology of M. microti infection.*

**Keywords:** *Mycobacterium microti*, Diagnosis, Bovine tuberculosis, Surveillance.



\* Texte de la communication orale présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA, 24 mars 2017

<sup>1</sup> LNR Tuberculose, UZB, Laboratoire de santé animale, Anses, Maisons-Alfort, France

## I - INTRODUCTION

*Mycobacterium microti* est une bactérie appartenant au complexe de *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), qui inclue également *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum* et *M. pinnipedii*. Cette espèce était initialement décrite comme l'agent de la tuberculose (TB) des petits rongeurs. En effet, le campagnol agreste (*Microtus agrestis*), le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*), le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*) et la musaraigne (*Sorex araneus*), qui sont particulièrement sensibles à l'infection par *M. microti*, constituent ses réservoirs naturels [Cavanagh *et al.*, 2002]. Cependant, un nombre croissant de cas ont été décrits chez des espèces domestiques et sauvages [Rodriguez-Campos *et al.*, 2014] telles que des chats [Rufenacht *et al.*, 2011 ; Emmanuel *et al.*,

2007], des porcs [Taylor *et al.*, 2006], des sangliers européens (*Sus scrofa*) [Boniotti *et al.*, 2014], des furets (*Mustela putorius*), des blaireaux (*Meles meles*) [Emmanuel *et al.*, 2007], des camélidés du nouveau monde (*Lama glama* et *Vicugna pacos*) [Emmanuel *et al.*, 2007], des singes-écureuils (*Saimiri sciureus*) [Henrich *et al.*, 2007], des suricates (*Suricata suricata*) [Palgrave *et al.*, 2012] et un chien [Deforges *et al.*, 2004]. Jusqu'à présent, 27 cas d'infection par *M. microti* ont été décrits chez des personnes [Panteix *et al.*, 2010] qu'elles soient immuno-compétentes [Niemann *et al.*, 2000] ou immuno-déprimées des suites d'une greffe, d'un diabète ou d'une infection par le VIH [Horstkotte *et al.*, 2001], démontrant le rôle de *M. microti* dans des cas cliniques et, par conséquent, son pouvoir zoonotique.

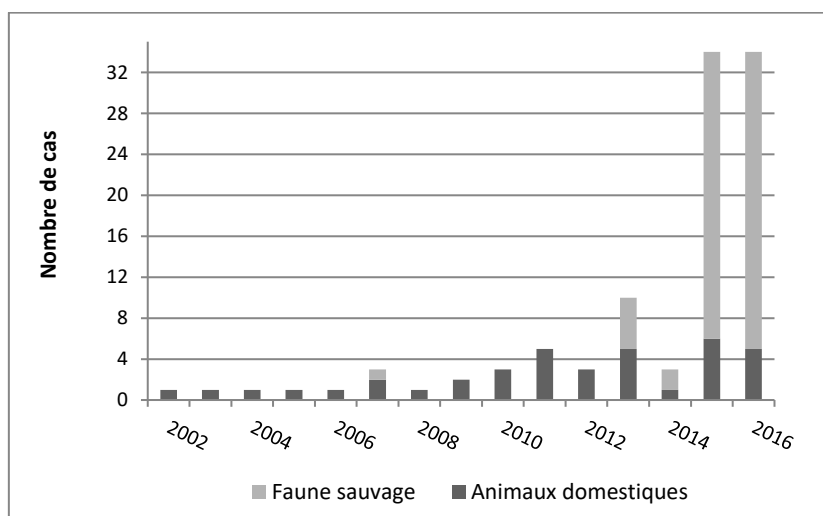
## II - ÉTUDE RÉTROSPECTIVE ET PROSPECTIVE

Cette étude est la première analyse des infections par *M. microti* chez les animaux, identifiées par le Laboratoire national de référence (LNR) Tuberculose entre 2002 et 2016. Au total, 103 cas ont été répertoriés dans cette période (figure 1) avec une nette augmentation les deux dernières années (68 cas entre 2015 et 2016). Ces cas ont été

observés dans une large variété d'espèces domestiques : chats (26 %), chiens (4 %), lamas ou alpagas d'élevage (2 %), ouistitis à toupets blancs (*Callithrix jacchus*) d'un parc animalier (2 %), porc, chèvre et bovin ; et également dans la faune sauvage : sangliers (*Sus scrofa*) (46 %), blaireaux (*Meles meles*) (16 %) et loutre (*Lutra lutra*) (1 %).

Figure 1

Nombre de cas décrits dans la faune sauvage et chez les animaux domestiques par année en France



Les organes des animaux présentant des lésions évocatrices de TB, ont été soumis à une analyse bactériologique et, à partir de 2005, également par des techniques de biologie moléculaire. Sur les 103 cas, seuls douze ont permis un isolement par bactériologie. La bactériologie des mycobactéries pathogènes est difficile et très longue, pouvant dépasser les trois mois de culture. De plus, les méthodes de culture utilisées au laboratoire sont optimisées pour *M. bovis*. L'isolement de *M. microti* nécessiterait peut-être d'autres milieux de culture plus adaptés ainsi que 18 semaines de culture au lieu des 12 semaines pour *M. bovis*. Les

méthodes moléculaires utilisées au LNR sont fondées sur un premier panel de quatre cibles qui permettent de différencier les mycobactéries du MTC des autres mycobactéries (IS6110, IS1081, IS1245 et Msp), puis sur deux cibles supplémentaires qui permettent de distinguer *M. bovis* de *M. microti* (IS1561 et RD4) (tableaux 1 et 2). Le typage moléculaire est ensuite réalisé par la méthode de spoligotypage [Cowan *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2010] sur les isolats ou directement sur les ADN positifs en PCR extraits à partir d'organes infectés.

**Tableau 1**  
**Différentiation des mycobactéries par diagnostic moléculaire**

	Msp	IS6110	IS1081	IS1245	IS1561	RD4
<i>M. bovis</i>	+	+	+	-	+	-
<i>M. microti</i>	+	+	+	-	-	+
Complexe <i>M. avium</i>	+	-	-	+	-	-
<i>Mycobacterium sp</i>	+	-	-	-	-	-

Le premier cas d'infection par *M. microti* décrit en France a été identifié grâce à l'isolement de la bactérie chez un chien qui présentait une anorexie et une dépression ainsi qu'une claudication de la patte arrière droite, avec des articulations douloureuses [Deforges *et al.*, 2004]. Quelques années plus tard, une étude sur six cas humains de tuberculose pulmonaire causés par *M. microti* a été publiée [Panteix *et al.*, 2010]. Récemment, un cas de tuberculose cutanée chez un chat a été décrit en Bourgogne [Laprie *et al.*, 2013], mais le typage moléculaire n'a pas été réalisé. Une première étude rétrospective réalisée par le LNR Tuberculose a décrit les cas répertoriés de 2002 à 2013 [Michelet *et al.*, 2015b]. Le nombre de cas a cependant continué d'augmenter surtout en 2015 et 2016. Ce nombre d'identifications croissant est le résultat d'une amélioration de la sensibilité des outils diagnostiques utilisés (principalement les

outils de typage moléculaire). Cette augmentation est également une conséquence de l'inclusion des cas de la faune sauvage, analysés par les techniques de biologie moléculaire depuis 2013 grâce au programme de surveillance de la TB bovine dans la faune sauvage, Sylvatub [Michelet *et al.*, 2015a]. En effet, jusqu'à récemment, les cas de TB dans la faune sauvage étaient uniquement confirmés par bactériologie, qui a une faible sensibilité pour le diagnostic de *M. microti*, même comparé à *M. bovis* [Smith *et al.*, 2009 ; van Soolingen *et al.*, 1998], bactérie également assez récalcitrante à la culture. Toutes ces observations suggèrent que *M. microti* circule dans les populations d'animaux domestiques et également dans la faune sauvage, et que la prévalence de cet agent pathogène a pu être sous-estimée avant l'introduction des outils moléculaires.

**Tableau 2**  
**Amorces et sondes utilisées pour la PCR temps réel**

Gènes ou séquences cibles	Amorces-Sonde	Séquence 5' – 3'
IS6110	TR IS6110 F TR IS6110 R TR IS6110 P	GGT AGC AGA CCT CAC CTA TGT GT AGG CGT CGG TGA CAA AGG (FAM)-CAC GTA GGC GAA CCC-(MGB-NFQ)
IS1081	TR IS1081 F TR IS1081 R TR IS1081 P	CCG CCA CCG TGA TTT CGA GCC AGT CCG GGA AAT AGC T (FAM)-CCG CAA CCA TCG ACG TC-(MGB-NFQ)
IS1245	TR IS1245 F TR IS1245 R TR IS1245 P	GCC GCC GAA ACG ATC TAC TGA CCC GGT GCG CAG CTT (FAM)-TCG CGT CCG CGC ACG CTG TCC A-(BHQ1)
Hsp65	F MSP R MSP P MSP	GCC AAG GAG GTC GAG ACC AA CTC CTC GAC GGT GAT GAC (FAM)-ACC TTG TCC ATC GCC TCG GCG AT-(BHQ1)
rv1510-RD4	1510-RD4 F 1510-RD4 R 1510-RD4 S	CCA CGA CTA TGA CTA GGA CAG CAA AAG AAC TAT CAA TCG GGC AAG ATC (FAM)- ACC AGT GAG GAA ACC-(MGB-NFQ)
IS1561	TR IS1561 F TR IS1561 R TR IS1561 P	GAT CCA GGC CGA GAG AAT CTG GGA CAA AAG CTT CGC CAA AA (FAM)- ACG GCG TTG ATC CGA TTC CGC-(BHQ1)

### III - DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

#### 1. VARIABILITÉ DE *M. MICROTI*

Les profils de spoligotypes ont été déterminés pour tous les cas de cette étude. Les noms officiels des profils (préfixe SB suivi de 4 chiffres) ont été obtenus du site internet *Mycobacterium bovis* spoligotype database (<http://www.mbovis.org/>) [Smith et Upton, 2012]. Comme cela a été suggéré dans la littérature, la diversité génétique de *M. microti* semble plus variée que prévu [Smith et al., 2009]. Jusqu'à présent, 28 profils spoligotypes de cette espèce de mycobactérie ont été décrits dans la littérature (tableau 3), mais seulement 25 ont été déposés dans la base de données internationale.

Tous ces profils sont supposés dériver d'un profil ancestral présumé, SB0155, également décrit chez *M. pinnipedi* [Cousins et al., 2003 ; Smith et al., 2009]. Les profils spoligotypes résultent d'une évolution unidirectionnelle avec une accumulation de délétions et la perte de certains espaceurs (*spacers*) conduisant à de nouveaux profils. Un cas intéressant est le profil SB2277, récemment décrit chez un sanglier italien, pour lequel la région DR ne comporte plus aucun des 43 espaceurs habituels [Boniotti et al., 2014]. Tous les cas présentant ce profil ont été confirmés par une PCR positive en RD4, ce qui permet d'assurer l'identification de *M. microti*.

**Tableau 3**

**Diversité génétique de *M. microti*, 28 profils spoligotypes décrits dans la littérature.**  
 Les profils français sont indiqués en gras. ND : non déposé sur la base M.bovis.org (<http://www.mbovis.org/>)

N° SB	Spoligotype	Sources	Reference
SB0155	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat, lama, alpaga, blaireau	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1510	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	porc	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB0326	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	alpaga, bovin	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1514	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB0988	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	bovin	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB0162</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	blaireau, <b>chat</b> , loutre	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b ; Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB2276</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>chat</b>	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b]
<b>SB2275</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>porc</b>	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b]
<b>SB2274</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>chat</b>	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b]
<b>SB2273</b>	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>sanglier, chien, chat</b>	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b]
ND	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	humain	[Panteix <i>et al.</i> , 2010]
ND	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	humain	[Panteix <i>et al.</i> , 2010]
SB0655	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	blaireau	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1403	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB2272</b>	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>sanglier</b>	[Michelet <i>et al.</i> , 2015b]
<b>SB0112</b>	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	alpaga, lama, bovin, porc, humain, loutre, poney, <b>chat, chien</b>	[Deforges <i>et al.</i> , 2004 ; Horstkotte <i>et al.</i> , 2001 ; Kremer <i>et al.</i> , 1998 ; <b>Michelet et al., 2015b</b> ; Niemann <i>et al.</i> , 2000 ; Smith <i>et al.</i> , 2009 ; van Soolingen <i>et al.</i> , 1998]
SB1505	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	lama	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1509	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	alpaga	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1511	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB0657	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Kremer <i>et al.</i> , 1998 ; Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB0423</b>	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat, humain, <b>lama</b>	[Kremer <i>et al.</i> , 1998 ; <b>Michelet et al., 2015b</b> ; Panteix <i>et al.</i> , 2010 ; Xavier Emmanuel <i>et al.</i> , 2007]
ND	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	humain	[Xavier Emmanuel <i>et al.</i> , 2007]
SB0654	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat, lama, blaireau, bovin	[Kremer <i>et al.</i> , 1998 ; Smith <i>et al.</i> , 2009]
SB1513	...♦♦♦♦.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB0118</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	campagnol, furet, lama, blaireau, porc, humain, suricate, sapajou, <b>chat</b> , <b>sanglier, alpaga, ouistiti</b>	[Henrich <i>et al.</i> , 2007 ; Kremer <i>et al.</i> , 1998 ; <b>Michelet et al., 2015b</b> ; Niemann <i>et al.</i> , 2000 ; Oevermann <i>et al.</i> , 2004 ; Palgrave <i>et al.</i> , 2012 ; Panteix <i>et al.</i> , 2010 ; Rufenacht <i>et al.</i> , 2011 ; Schoning <i>et al.</i> , 2013 ; Smith <i>et al.</i> , 2009 ; van Soolingen <i>et al.</i> , 1998]
ND	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	humain	[Panteix <i>et al.</i> , 2010]
SB1512	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	chat	[Smith <i>et al.</i> , 2009]
<b>SB2277</b>	.....♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦♦.....	<b>sanglier</b>	[Boniotti <i>et al.</i> , 2014 ; <b>Michelet et al., 2015b</b> ]

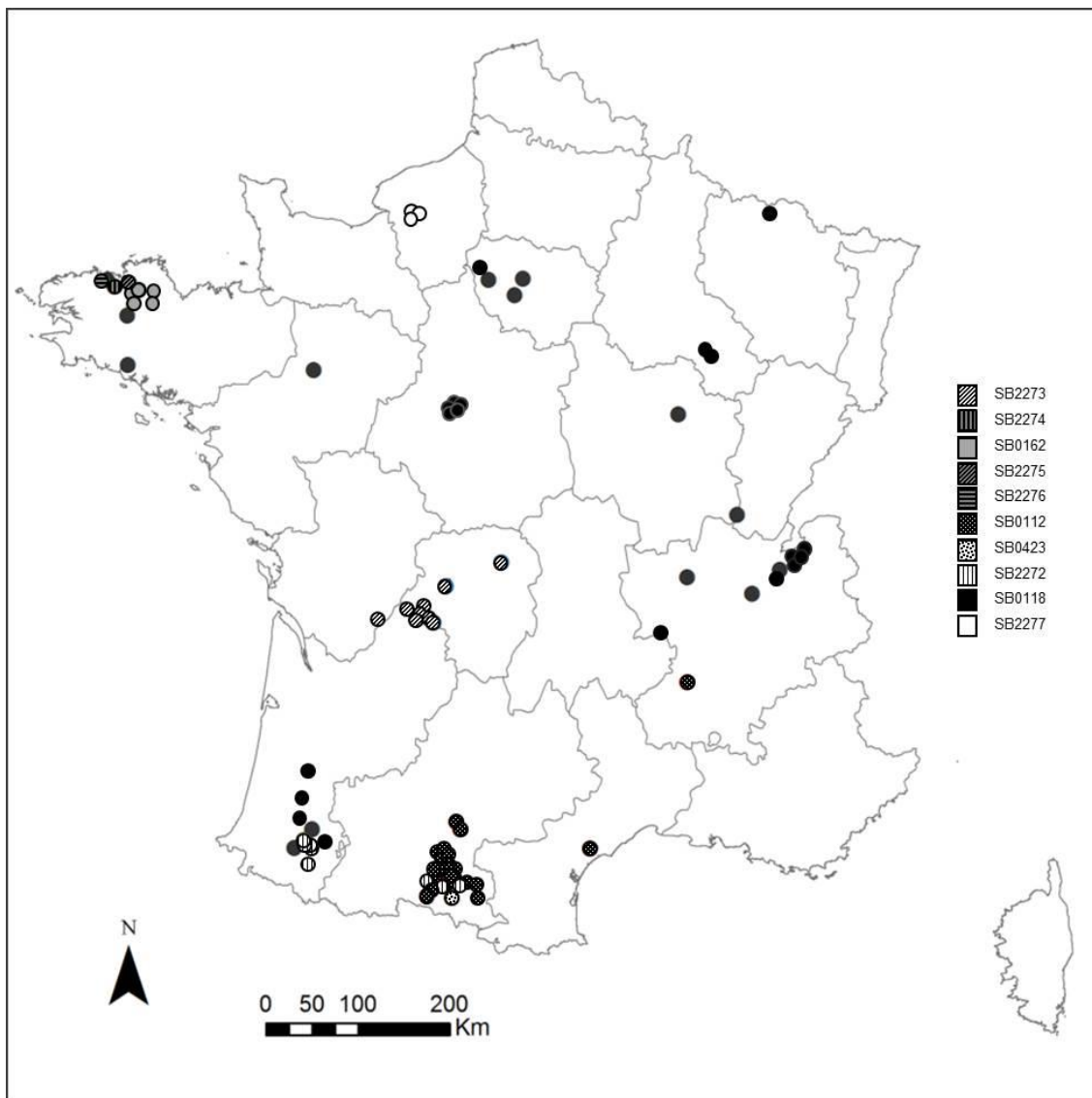
## 2. DIVERSITÉ FRANÇAISE ET RÉGIONALISATION

En France, nous observons 10 spoligotypes différents, dont cinq ont déjà été décrits dans la littérature. Le tableau 3 résume tous les profils connus de *M. microti* avec l'espèce animale dans laquelle ils ont été identifiés et la figure 2 montre la répartition des cas français avec leur profil spoligotype associé. Le profil SB0118 est l'un des profils les plus décrits dans la littérature [Henrich *et al.*, 2007 ; Kremer *et al.*, 1998 ; Michelet *et al.*, 2015b ; Niemann *et al.*, 2000 ; Oevermann *et al.*,

2004 ; Palgrave *et al.*, 2012 ; Panteix *et al.*, 2010 ; Rufenacht *et al.*, 2011 ; Schoning *et al.*, 2013 ; Smith *et al.*, 2009 ; van Soolingen *et al.*, 1998]. Il est aussi le plus commun en France (36 cas) avec une large répartition géographique. Un second profil bien décrit est le profil SB0112 [Deforges *et al.*, 2004 ; Horstkotte *et al.*, 2001 ; Kremer *et al.*, 1998 ; Michelet *et al.*, 2015b ; Niemann *et al.*, 2000 ; Smith *et al.*, 2009 ; van Soolingen *et al.*, 1998] identifié en France dans 32 cas, dont une grande majorité en Ariège.

Figure 2

Répartition géographique des cas de *M. microti* et leur profil spoligotype



Ce profil présente un seul espaceur de différence avec le profil SB0423 qu'on a observé en France une fois chez un lama, également en Ariège, et qui a par ailleurs été décrit chez des cas humains français et chez un chat [Kremer *et al.*, 1998 ; Michelet *et al.*, 2015b ; Panteix *et al.*, 2010 ; Emmanuel *et al.*, 2007]. Ces deux profils forment un groupe clairement localisé dans le sud-ouest de la France. Le profil SB0162, décrit précédemment chez un blaireau anglais [Smith *et al.*, 2009], est observé en France dans cinq cas dont quatre chats, tous localisés en Bretagne. Ce profil est proche de trois nouveaux profils identifiés en France SB2274 à SB2276 ; on les retrouve dans la même zone géographique au nord de la Bretagne. Un nouveau profil, SB2273, a également été décrit chez des

sangliers et des blaireaux, mais également chez un chat et chez un chien. Tous ces cas ont été identifiés dans le centre de la France, dans le Limousin, nord de l'Aquitaine et en Charente. Un autre profil, SB2272, a été décrit pour la première fois en France, uniquement chez des sangliers dans les Pyrénées-Atlantiques et en Ariège. Ce profil est très proche du profil SB1403, décrit chez un chat en Grande-Bretagne [Smith *et al.*, 2009]. Le profil SB2277 est le dernier profil observé en France chez trois sangliers de Seine-Maritime.

*M. microti* présente donc une importante variabilité génétique en France et montre une certaine régionalisation de ses génotypes. Seul le profil SB0118 est observé sur tout le territoire, les autres semblent limités géographiquement.

---

## IV - ÉPIDÉMIOLOGIE DE *M. MICROTI*

---

### 1. INTERFÉRENCE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA TB BOVINE

*M. microti* est un agent tuberculeux du MTC, très proche de *M. bovis*, qui peut par conséquent interférer dans le diagnostic de la TB bovine et entraîner des conséquences dans la gestion des élevages. En 2015, nous avons été confrontés au premier cas d'infection par *M. microti* chez une chèvre d'un élevage laitier cru [Michelet *et al.*, 2016] et également au premier cas chez un bovin [Michelet *et al.*, 2017]. L'investigation a commencé sur le cheptel caprin, en lien avec un cheptel bovin dont le cas index avait été découvert à l'abattoir. Trois animaux ont eu un résultat positif à l'intradermo-tuberculation simple. Après abattage de ces trois chèvres, deux n'ont pas présenté de lésions à l'inspection alors que la 3<sup>ème</sup> avait des lésions sur les nœuds lymphatiques rétropharyngiens et médiastinaux. L'examen histologique a mis en évidence des lésions évocatrices de tuberculose avec une nécrose et des cellules géantes de Langhans ainsi que quelques bacilles acido-alcool-résistants à la coloration de Ziehl-Neelsen. La culture de ces prélèvements était négative au bout de trois mois. Par contre, un résultat positif a été obtenu par PCR avec le kit LSI VetMAX™ *Mycobacterium tuberculosis* Complex Real-Time PCR Kit (Thermo Fisher scientific, France).

Le LNR a par la suite confirmé la détection de *M. microti* spoligotype SB0118.

L'enquête a permis également d'identifier l'infection par *M. microti* dans le même laps de temps chez un bovin à 5 km du cheptel caprin, qui a potentiellement partagé une pâture avec le cheptel caprin, ainsi que chez un blaireau à 8 km, les deux présentant le même génotype. La contamination de ces animaux doit être d'origine environnementale ou due à une interaction avec la faune sauvage. En effet, *M. microti* semble circuler activement dans cette région où des cas d'infection chez deux chats et un blaireau ont également été identifiés, toujours avec le même génotype.

Des tests diagnostiques très spécifiques sont nécessaires afin d'identifier précisément une infection à *M. bovis* (ou *M. caprae*) à l'examen *ante-mortem*, avec l'utilisation d'antigènes spécifiques tels que ESAT6 ou CFP10 qui sont absents chez *M. microti*. Ces antigènes sont actuellement utilisés dans le test interféron gamma en France [Faye *et al.*, 2011]. De plus, au diagnostic *post-mortem*, l'utilisation d'outils moléculaires spécifiques comme ceux utilisés au LNR est capable de distinguer rapidement les membres du MTC et alors de ne pas confondre les agents à l'origine des infections animales.

## 2. EFFET PROTECTEUR CONTRE LA TB BOVINE ?

Cette étude rétrospective et prospective semble démontrer que *M. microti* est enzootique dans certaines régions françaises, comme cela avait été observé en Grande-Bretagne [Smith *et al.*, 2009]. Ces auteurs avaient émis l'hypothèse que dans les régions où *M. microti* est enzootique chez les blaireaux ou chez les chats, cela pourrait apporter une protection aux bovins contre l'infection par *M. bovis*, et par conséquent expliquer la faible incidence de la TB bovine dans ces régions [Gunn-Moore *et al.*, 2011 ; Smith *et al.*, 2009].

Cette immunité protectrice contre *M. bovis* ne semble pas s'appliquer aux sangliers, qui en France semblent être impliqués dans le maintien de l'infection, ou également chez les bovins, car de nouveaux foyers de TB bovine sont découverts chaque année dans des régions enzootiques pour *M. microti*. En effet, les zones d'infection par *M. microti* et *M. bovis* se chevauchent en France, notamment dans les zones où des sangliers et des blaireaux ont été trouvés infectés par *M. microti*, telles que le sud de l'Aquitaine et la Bourgogne. Les prévalences de *M. microti* et *M. bovis* chez le sanglier en Aquitaine ont été estimées respectivement à 0,5 % et 2,5 %, grâce à la surveillance de la faune sauvage depuis 2013. Une étude sérologique conduite sur des sangliers en France a mis en évidence la répartition des animaux exposés au MTC, principalement *M. bovis* et *M. microti*, qui se superpose à la distribution des foyers bovins de TB [Richomme *et al.*, 2013], et correspond aux mêmes régions où *M. microti* est enzootique dans la faune sauvage. Ces observations viennent à l'encontre de l'hypothèse d'une compétition entre *M. bovis* et *M. microti* et

tendent à suggérer qu'il n'y a pas d'exclusion géographique de ces deux espèces de mycobactéries.

## 3. TRANSMISSION ZONOTIQUE

La transmission zoonotique de *M. microti* pourrait se produire par contact direct avec des animaux infectés, principalement des chats [McGoldrick *et al.*, 2010] mais également, comme cela a été suggéré, une souris [van Soolingen *et al.*, 1998] ou un raton-laveur (*Procyon lotor*) ou un chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) [Frank *et al.*, 2009]. Un autre probable moyen de contamination serait avec des prélèvements environnementaux souillés par ces animaux, et principalement par des petits rongeurs. En effet, les populations de ces espèces sont largement distribuées non seulement dans les zones rurales mais également dans les zones péri-urbaines. Même si les infections à *M. microti* peuvent être considérées comme rares chez l'Homme, la découverte d'un nombre important d'infections chez les animaux montre que l'exposition pour l'Homme pourrait être plus importante que prévue. Par ailleurs, si on n'utilise pas les bons outils de discrimination moléculaire pour identifier les agents d'une infection tuberculeuse, les cas chez l'Homme pourraient aussi passer inaperçus. Le risque pour les populations humaines pourrait également être non négligeable. Comme cela a été le cas pour les animaux, la prévalence de *M. microti* ainsi que son importance clinique chez l'Homme ont pu être sous-estimées.

---

## V - CONCLUSION

---

Il semble important de surveiller cet agent pathogène qui est plus répandu qu'on ne le pensait, qui interfère dans le diagnostic de la TB bovine et qui présente également un risque pour les populations humaines. Une surveillance accrue de la tuberculose animale et humaine, fondée sur des

tests diagnostiques performants, avec des antigènes spécifiques pour les tests *ante mortem* et des outils moléculaires spécifiques en *post mortem* qui évitent la confirmation de l'infection par bactériologie, aiderait à mieux caractériser l'épidémiologie de cet agent pathogène.



## BIBLIOGRAPHIE

- Boniotti M.B., Gaffuri A., Gelmetti D., Tagliabue S., Chiari M., Mangeli A., Spisani M., Nassuato C., Gibelli L., Sacchi C., Zanoni M., Pacciarini M.L. - Detection and molecular characterization of *Mycobacterium microti* in wild boar from northern Italy. *J. Clin. Microbiol.*, 2014, **52**, 2834-2843.
- Cavanagh R., Begon M., Bennett M., Ergon T., Graham I.M., De Haas P.E., Hart C.A., Koedam M., Kremer K., Lambin X., Roholl P., van Soolingen D. - *Mycobacterium microti* infection (vole tuberculosis) in wild rodent populations. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 3281-3285.
- Cousins D.V., Bastida R., Cataldi A., Quse V., Redrobe S., Dow S., Duignan P., Murray A., Dupont C., Ahmed N., Collins D.M., Butler W.R., Dawson D., Rodriguez D., Loureiro J., et al. - Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2003, **53**, 1305-1314.
- Cowan L.S., Diem L., Brake M.C., Crawford J.T. - Transfer of a *Mycobacterium tuberculosis* genotyping method, Spoligotyping, from a reverse line-blot hybridization, membrane-based assay to the Luminex multianalyte profiling system. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 474-477.
- Deforges L., Boulouis H.J., Thibaud J.L., Boulouha L., Sougakoff W., Blot S., Hewinson G., Truffot-Pernot C., Haddad N. - First isolation of *Mycobacterium microti* (Llama-type) from a dog. *Vet. Microbiol.*, 2004, **103**, 249-253.
- Emmanuel F.X., Seagar A.L., Doig C., Rayner A., Claxton P., Laurenson I. - Human and animal infections with *Mycobacterium microti*, Scotland. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 1924-1927.
- Faye S., Moyen J.L., Gares H., Benet J.J., Garin-Bastuji B., Boschioli M.L. - Determination of decisional cut-off values for the optimal diagnosis of bovine tuberculosis with a modified IFN $\gamma$  assay (Bovigam(R)) in a low prevalence area in France. *Vet. Microbiol.*, 2011, **151**, 60-67.
- Frank W., Reisinger E.C., Brandt-Hamerla W., Schwede I., Handrick W. - *Mycobacterium microti*-pulmonary tuberculosis in an immunocompetent patient. *Wien Klin Wochenschr*, 2009, **121**, 282-286.
- Gunn-Moore D.A., McFarland S.E., Brewer J.I., Crawshaw T.R., Clifton-Hadley R.S., Kovalik M., Shaw D.J. - Mycobacterial disease in cats in Great Britain: I. Culture results, geographical distribution and clinical presentation of 339 cases. *J. Feline Med. Surg.*, 2011, **13**, 934-944.
- Henrich M., Moser I., Weiss A., Reinacher M. - Multiple granulomas in three squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) caused by *Mycobacterium microti*. *J. Comp. Pathol.*, 2007, **137**, 245-248.
- Horstkotte M.A., Sobottka I., Schewe C.K., Schafer P., Laufs R., Rusch-Gerdes S., Niemann S. - *Mycobacterium microti* llama-type infection presenting as pulmonary tuberculosis in a human immunodeficiency virus-positive patient. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, **39**, 406-407.
- Kremer K., van Soolingen D., van Embden J., Hughes S., Inwald J., Hewinson G. - *Mycobacterium microti*: more widespread than previously thought. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, **36**, 2793-2794.
- Laprie C., Duboy J., Malik R., Fyfe J. - Feline cutaneous mycobacteriosis: a review of clinical, pathological and molecular characterization of one case of *Mycobacterium microti* skin infection and nine cases of feline leprosy syndrome from France and New Caledonia. *Vet. Dermatol.*, 2013, **24**, 561-569, e133-564.
- McGoldrick C., Coghlin C., Seagar A.L., Laurenson I., Smith N.H., Stewart W.C., Kerr K.M., Douglas J.G. - *Mycobacterium microti* infection associated with spindle cell pseudotumour and hypercalcaemia: a possible link with an infected alpaca. *BMJ Case Rep.*, 2010, **2010**.
- Michelet L., de Cruz K., Phalente Y., Karoui C., Henault S., Boschioli M.L. - *Mycobacterium microti* detection in French wildlife. *Vet. Rec.*, 2015a, **177**, 446.

- Michelet L., de Cruz K., Zanella G., Aaziz R., Bulach T., Karoui C., Henault S., Joncour G., Boschioli M.L. - Infection with *Mycobacterium microti* in animals in France. *J. Clin. Microbiol.*, 2015b, **53**, 981-985.
- Michelet L., de Cruz K., Phalente Y., Karoui C., Henault S., Beral M., Boschioli M.L. - *Mycobacterium microti* Infection in Dairy Goats, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, **22**, 569-570.
- Michelet L., de Cruz K., Karoui C., Hénault S., Boschioli M.L. - *Mycobacterium microti* infection in a cow in France. *Vet. Rec.*, 2017, **180**, 429.
- Niemann S., Richter E., Dalugge-Tamm H., Schlesinger H., Graupner D., Königstein B., Gurath G., Greinert U., Rusch-Gerdes S. - Two cases of *Mycobacterium microti* derived tuberculosis in HIV-negative immunocompetent patients. *Emerg. Infect. Dis.*, 2000, **6**, 539-542.
- Oevermann A., Pfyffer G.E., Zanolari P., Meylan M., Robert N. - Generalized tuberculosis in llamas (*Lama glama*) due to *Mycobacterium microti*. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 1818-1821.
- Palgrave C.J., Benato L., Eatwell K., Laurenson I.F., Smith N.H. - *Mycobacterium microti* infection in two meerkats (*Suricata suricatta*). *J. Comp. Pathol.*, 2012, **146**, 278-282.
- Panteix G., Gutierrez M.C., Boschioli M.L., Rouviere M., Plaidy A., Pressac D., Porcheret H., Chyderiotis G., Ponsada M., Van Oortegem K., Salloum S., Cabuzel S., Banuls A.L., Van de Perre P., Godreuil S. - Pulmonary tuberculosis due to *Mycobacterium microti*: a study of six recent cases in France. *J. Med. Microbiol.*, 2010, **59**, 984-989.
- Richomme C., Boadella M., Courcoul A., Durand B., Drapeau A., Corde Y., Hars J., Payne A., Fediaevsky A., Boschioli M.L. - Exposure of wild boar to *Mycobacterium tuberculosis* complex in France since 2000 is consistent with the distribution of bovine tuberculosis outbreaks in cattle. *PLoS one*, 2013, **8**, e77842.
- Rodriguez-Campos S., Smith N.H., Boniotti M.B., Aranaz A. - Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Res. Vet. Sci.*, 2014, **97**, S5-S19.
- Rufenacht S., Bogli-Stuber K., Bodmer T., Jaunin V.F., Jmaa D.C., Gunn-Moore D.A. - *Mycobacterium microti* infection in the cat: a case report, literature review and recent clinical experience. *J. Feline Med. Surg.*, 2011, **13**, 195-204.
- Schoning J.M., Cerny N., Prohaska S., Wittenbrink M.M., Smith N.H., Bloemberg G., Pewsner M., Schiller I., Origi F.C., Ryser-Degiorgis M.P. - Surveillance of bovine tuberculosis and risk estimation of a future reservoir formation in wildlife in Switzerland and Liechtenstein. *PLoS one*, 2013, **8**, e54253.
- Smith N.H., Crawshaw T., Parry J., Birtles R.J. - *Mycobacterium microti*: More diverse than previously thought. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, **47**, 2551-2559.
- Smith N.H., Upton P. - Naming spoligotype patterns for the RD9-deleted lineage of the *Mycobacterium tuberculosis* complex; www.Mbovis.org. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, **12**, 873-876.
- Taylor C., Jahans K., Palmer S., Okker M., Brown J., Steer K. - *Mycobacterium microti* isolated from two pigs. *Vet. Rec.*, 2006, **159**, 59-60.
- van Soolingen D., van der Zanden A.G., de Haas P.E., Noordhoek G.T., Kiers A., Foudraine N.A., Portaels F., Kolk A.H., Kremer K., van Embden J.D. - Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, **36**, 1840-1845.
- Zhang J., Abadia E., Refregier G., Tafaj S., Boschioli M.L., Guillard B., Andremont A., Ruimy R., Sola C. - *Mycobacterium tuberculosis* complex CRISPR genotyping: improving efficiency, throughput and discriminative power of 'spoligotyping' with new spacers and a microbead-based hybridization assay. *J. Med. Microbiol.*, 2010, **59**, 285-294.

