

PREMIERS TESTS DE DISTRIBUTION D'APPÂTS EN VUE DE LA VACCINATION ORALE DU BLAIREAU CONTRE LA TUBERCULOSE BOVINE EN FRANCE. IMPACT DES ESPÈCES NON CIBLES*

Payne Ariane^{1,2}, Ruet Sandrine¹, Schmitd Rémi³, Duhayer Jeanne⁴, Colombe Matthieu⁵,
Lesellier Sandrine⁶, Richomme Céline⁷, Rossi Sophie¹



RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact des espèces non cibles lors de déploiement d'appâts candidats pour la vaccination orale des blaireaux contre la tuberculose bovine, qui pourrait être une mesure de gestion intéressante en France pour limiter la transmission blaireau-bovin. L'étude a été conduite en zone infectée de Côte-d'Or sur 15 terriers situés à proximité de pâtures où les appâts (sans vaccin), mis au point en Angleterre, ont été distribués au printemps et en été dans ou devant les gueules de terriers. Des pièges vidéographiques ont été utilisés pour évaluer la fréquentation des terriers et la potentielle consommation des appâts par les espèces non cibles et un suivi visuel de la disparition des appâts a également été réalisé puis analysé. En dehors du blaireau, les espèces les plus fréquentes ont été le chevreuil, le chat sauvage et le renard. La consommation d'appâts, plus fréquente en été quand les appâts étaient distribués devant les gueules, a été observée par des oiseaux, des renards, des bovins, des petits rongeurs, des ragondins et la martre ou la fouine. Cette étude a :

1. montré un spectre d'espèces non cibles plus important qu'en Angleterre,
2. identifié le renard comme l'espèce pouvant avoir le plus d'impact sur la prise d'appâts par les blaireaux,
3. montré que les bovins peuvent consommer l'appât, ce qui devra être pris en compte pour éviter l'interférence avec les tests de dépistage, si la vaccination orale du blaireau avec le BCG était envisagée.

Mots-clés : blaireau, tuberculose bovine, vaccin oral, appâts, espèces non cibles.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the impact of non-target species on a candidate baits deployment, in the perspective of orally vaccinate badgers against bovine tuberculosis (BTb). Indeed, vaccinating badgers could be an interesting tool to manage BTb at the badger-cattle interface in France. The study was carried out in the infected area of Côte-d'Or, on 15 setts located in the vicinity of pastures. The baits (developed in the UK, here used without any vaccine) were deployed in spring and summer, either down or in front of the holes.

.../..

Reçu le 23 juillet 2019, accepté le 24 août 2019

* Texte de la communication orale présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA, 24 mai 2019

¹ ONCFS, Direction des études et de l'expertise, Montfort, 01330 Birieux, France

² Groupement de défense sanitaire de Côte-d'Or, 1 rue des Coulots, 21110 Bretenière, France

³ UFRST, Master EDGE, 16, route de Gray, 25000 Besançon, France

⁴ Université Lyon 1, UMR 5558, CNRS-LBBE, 69100 Villeurbanne, France

⁵ VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon, 69280 Marcy l'Etoile, France

⁶ Animal and Plant Health Agency, Woodham Lane, KT15 3NB, UK

⁷ Anses, Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy, Pixérécourt, 54220 Malzéville, France

.../..

Camera-traps were used to monitor the presence of non-target species on setts as well as their behaviour towards the baits. The removal rate of the baits was also monitored and analysed. Apart from the Badger, the Roe Deer, the Wild Cat and the Red Fox were the most frequent species observed on the setts. The bait removal rate was more frequent in summer when baits were placed down entrance holes and bait uptake was observed from birds, red foxes, cattle, small rodents, nutrias and martens. This study:

1. *showed a wider range of non-target species than what was reported in the UK,*
2. *identified the Red Fox as the species that might have the highest impact on badgers' bait uptake,*
3. *showed that cattle might consume the bait, which has to be taken into account when deploying baits containing BCG, as this could interfere with diagnostic tests.*

Keywords: *Badger, Bovine tuberculosis, Oral vaccine, Baits, Non-target species.*



I - INTRODUCTION

L'implication d'hôtes sauvages dans la circulation ou le maintien d'agents pathogènes multi-hôtes infectant la faune domestique complique la lutte et la maîtrise des maladies causées par ces agents. En effet, le rôle épidémiologique des hôtes sauvages est souvent mal connu et la surveillance et l'implémentation de mesures de gestion sont souvent plus difficiles que dans la faune domestique du fait de leur moindre accessibilité. Selon les maladies, leur dynamique de transmission et les outils disponibles, les mesures de lutte dans la faune sauvage incluent la diminution d'abondance locale, la vaccination et/ou la limitation des contacts au sein de la faune et à l'interface sauvage-domestique [Gortazar *et al.*, 2015].

La vaccination orale a été utilisée avec succès pour éradiquer la rage vulpine [Cliquet et Aubert, 2004 ; Rupprecht *et al.*, 2004 ; Freuling *et al.*, 2013] dans plusieurs pays et la peste porcine classique chez le sanglier en France [Rossi *et al.*, 2015]. Cependant, le développement d'un vaccin oral pour la faune sauvage est complexe car la délivrance *via* un appât doit garantir la stabilité et l'efficacité du vaccin. En outre, son innocuité pour l'environnement - incluant les espèces non cibles susceptibles de consommer l'appât - doit aussi être prouvée. La sélectivité de l'appât et son mode de distribution sont donc des paramètres importants à établir pour optimiser la prise par l'espèce cible et déterminer des stratégies vaccinales efficaces [Cross *et al.*, 2007].

Mycobacterium bovis est un agent pathogène multi-hôtes capable d'infecter un large spectre de mammifères domestiques et sauvages. Parmi celles-ci, le Blaireau (*Meles meles*) est considéré comme un hôte de maintien dans les îles britanniques, entravant la maîtrise de la maladie chez les bovins. La destruction des blaireaux est l'une des mesures de lutte mises en œuvre, avec des résultats variables selon les pays (bons résultats en Irlande et résultats plus mitigés au Royaume-Uni) et la surface d'intervention (meilleurs résultats sur des surfaces supérieures à 100 km²) et posant également des problèmes éthiques [Corner *et al.*, 2011 ; Karolemeas *et al.*, 2012 ; Gormley et Corner, 2013].

Le développement d'un vaccin vivant atténué, le BCG (Bacille Calmette-Guérin), contre la tuberculose chez le blaireau a démarré en 2001 dans les îles britanniques et, en 2010, une forme injectable a été homologuée. Ce vaccin montre une efficacité dans la réduction de la sévérité des lésions et l'excrétion de *M. bovis*, limitant ainsi la capacité des blaireaux vaccinés à transmettre l'infection à d'autres hôtes [Corner *et al.*, 2010 ; Lesellier *et al.*, 2011 ; Chambers *et al.*, 2017]. De plus, la probabilité d'infection est réduite chez les blaireaux vaccinés et

les jeunes non vaccinés appartenant au même groupe, indiquant une immunité de groupe [Carter *et al.*, 2012 ; Gormley *et al.*, 2017]. Le vaccin injectable a été inclus dans les mesures de gestion au Royaume-Uni et en Irlande suivant différents protocoles. Les résultats des campagnes de vaccination, notamment en Irlande où cette stratégie est comparée avec la destruction, sont attendues dans les prochaines années [Gormley et Corner, 2013 ; Anses, sous presse]. L'administration de ce vaccin parentéral requiert cependant de capturer les blaireaux, alourdissant la mise en œuvre et le coût, et limitant son utilisation à large échelle. Une forme orale est en cours de développement : des tests expérimentaux d'administration du BCG par voie orale et en nature ont fourni des résultats comparables à ceux du vaccin injectable en termes d'efficacité et d'innocuité chez les blaireaux [Murphy *et al.*, 2014 ; Gormley *et al.*, 2017 ; Chambers *et al.*, 2017 ; Perrett *et al.*, 2018]. Un appât, répondant aux critères de conservation du BCG, d'attractivité pour les blaireaux et pouvant être produit à large échelle et à bas coût, a été mis au point [Gowtage *et al.*, 2017]. Son appétence et sa sélectivité pour les blaireaux ont ainsi été testées sur des animaux en captivité et en nature en zone enzootique d'Angleterre en comparaison avec d'autres appâts candidats [Robertson *et al.*, 2016 ; Gowtage *et al.*, 2017 ; Palphramand *et al.*, 2017]. La consommation par les espèces non cibles a été investiguée par piégeage photographique : les petits rongeurs, notamment l'écureuil, ont été les espèces les plus fréquemment observées sur les terriers et sont les seules à avoir été vues en train de consommer les appâts (dans près de 4 % des observations sur les terriers). Dix autres espèces ont été observées sur les terriers surveillés (sans consommation) et aucune interaction de bovin avec les appâts n'a été détectée (mais seuls deux terriers étaient concernés) [Robertson *et al.*, 2015 ; Robertson *et al.*, 2016]. La consommation d'appâts contenant du BCG par les bovins pourrait s'avérer problématique car elle pourrait engendrer une réaction positive aux tests de dépistage [Buddle *et al.*, 2005].

En France, des blaireaux sont trouvés infectés dans les zones où une augmentation des foyers à *M. bovis* chez les bovins a été observée, comme en Côte-d'Or ou en Nouvelle Aquitaine [Réveillaud *et al.*, 2018]. Dans ces zones, les blaireaux sont considérés à ce jour comme des hôtes de liaison, c'est-à-dire aptes à transmettre l'infection aux autres hôtes de la communauté multi-hôtes et notamment aux bovins, de façon variable suivant l'importance de l'interface entre les deux espèces [Payne, 2014 ; Anses, sous presse]. La régulation des blaireaux en périphérie des foyers bovins est la méthode employée actuellement, accompagnée de recommandations aux éleveurs pour mettre en place des mesures de biosécurité

(source : DGAL/SDSPA/2018-708). En Côte-d'Or, le piégeage pratiqué depuis 2009 a conduit à une baisse de densité des blaireaux [Jacquier *et al.*, *in prep.*] et le nombre de foyers bovins est passé de 45 en 2010 à 3 en 2017 [Delavenne *et al.*, 2017], résultant d'un ensemble de mesures mises en œuvre chez les bovins et dans la faune sauvage. Chez les blaireaux, la prévalence apparente est passée de 8,1 % (6,3-10,3 %) en 2013-2014 à 4,2 % (2,6-6,2 %) en 2016-2017 [Réveillaud *et al.*, 2018] et uniquement quatre individus ont été trouvés infectés en 2018 (données Sylvatub). Malgré cette nette amélioration, l'infection persiste à faible niveau de façon récurrente chez les animaux domestiques et sauvages dans les mêmes zones, voire dans les mêmes élevages. De plus, la régulation des blaireaux repose sur des piègeurs bénévoles et montre des limites opérationnelles et d'efficacité. Dans ce contexte, l'utilisation chez le blaireau du vaccin BCG permettrait de diminuer la contamination environnementale et la transmission à partir des blaireaux, et constituerait une stratégie de lutte intéressante en complément ou comme alternative au piégeage. Les tests de déploiement des appâts ayant été, à ce jour, uniquement conduits en Angleterre, leurs résultats ne peuvent être extrapolés aux situations continentales où la densité en blaireaux ainsi que la variété et l'abondance de potentielles espèces non cibles diffèrent. L'objectif de cette étude était donc d'estimer l'impact des espèces non cibles sur l'efficacité d'une distribution d'appâts pour la vaccination orale du blaireau contre la tuberculose bovine dans une zone française d'enzootie, correspondant à une situation continentale où les densités de populations de blaireaux sont plus faibles et la communauté d'espèces non-cibles *a priori* plus grande qu'en Angleterre. L'étude a ainsi été conduite en zone infectée de Côte-d'Or, à l'interface blaireau-bovin *i.e.* sur des terriers à proximité de pâtures. En nous fondant sur des données de vidéosurveillance, notre premier objectif était de déterminer quelles espèces autres que les blaireaux fréquentaient les terriers, dans quelle mesure et si des facteurs paysagers et saisonniers influençaient la fréquence de leur visite. La présence d'appâts (distribués dans le cadre de l'étude) et leur mode de distribution ont également été inclus dans cette analyse. Dans un deuxième temps, nous avons relevé les comportements d'interaction de ces espèces non cibles vis-à-vis des appâts afin de déterminer celles qui pouvaient avoir le plus d'impact sur la prise par les blaireaux. En incluant des terriers accessibles aux bovins, un objectif de l'étude était également d'étudier l'attractivité et la consommation de l'appât par cette espèce. Enfin, nous avons modélisé le taux de disparition des appâts, mesuré sur la base de données de recensement visuel, dans le but d'identifier si des facteurs, notamment le taux de

fréquentation des espèces non cibles, pouvaient expliquer cette disparition.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. SITE D'ETUDE

Le site d'étude se situe dans la zone infectée du département de la Côte-d'Or qui couvre une surface d'environ 3 000 km² et représente un tiers du département (figure 1). La surface et la localisation du cœur de cette zone demeurent pratiquement inchangées depuis 2010 et la tuberculose bovine (TB) y circule au sein d'une communauté d'hôtes incluant bovins, blaireaux, sangliers et plus sporadiquement renards et cerfs [Réveillaud *et al.*, 2018]. Le nombre de foyers bovins était de 3 en 2017 tandis que la prévalence déterminée par PCR s'élevait, en 2016-2017 à 4,2 % et 2,4 % chez le blaireau et le sanglier respectivement [Réveillaud *et al.*, 2018].

Quinze terriers ont été sélectionnés au sein de la zone infectée. Nous avons distingué deux sous-zones (figure 1) : la zone A, en bordure nord-ouest de la zone infectée, présente un paysage majoritairement ouvert avec de petits îlots forestiers. Peu de foyers de TB y ont été détectés. La densité de populations de blaireaux était estimée en 2017 à 2,64 blaireaux adultes/km² [1,57-4,09 IC 95 %] [Jacquier *et al.*, *in prep.*]. La zone B se situe au nord de la zone infectée, le couvert végétal et le relief y sont plus importants qu'en zone A et la densité en populations de blaireaux adultes s'élevait, en 2016, à 3,82 adultes/km² [2,29-5,66 IC 95 %] [Jacquier *et al.*, *in prep.*]. Le nombre de foyers de TB cumulés depuis 2009 est beaucoup plus élevé qu'en zone A. Le piégeage des blaireaux est mis en œuvre depuis 2010 avec une destruction ciblée des populations vivant dans les terriers se trouvant dans un rayon de 2 km autour des foyers bovins détectés dans les quatre précédentes années. En conséquence, le piégeage a été plus intense en zone B qu'en zone A : en moyenne, de $0,97 \pm 0,50$ blaireaux/km²/an et de $0,52 \pm 0,61$ blaireaux/km²/an entre 2009 et 2017 en zone B et en zone A respectivement (Source DDPP 21).

Afin de cibler l'interface blaireaux-bovins, les quinze terriers sélectionnés pour l'étude ont été choisis à une distance maximale de 200m des pâtures, certaines appartenant à des élevages ayant été foyers de TB. Leur occupation par des blaireaux a été vérifiée sur la base d'indices de présence et de

la vidéosurveillance. Afin de tester l'effet du paysage et du piégeage sur la présence et le comportement des espèces non cibles, les terriers ont été sélectionnés selon un gradient d'ouverture paysagère (forêt/ lisière /milieu ouvert) et d'intensité du piégeage pratiqué entre 2011 et 2017 (entre 0 et 11,3 blaireaux éliminés/km²/an). Six terriers étaient entièrement ou partiellement localisés dans des pâtures occupées par des bovins allaitants entre avril et août.

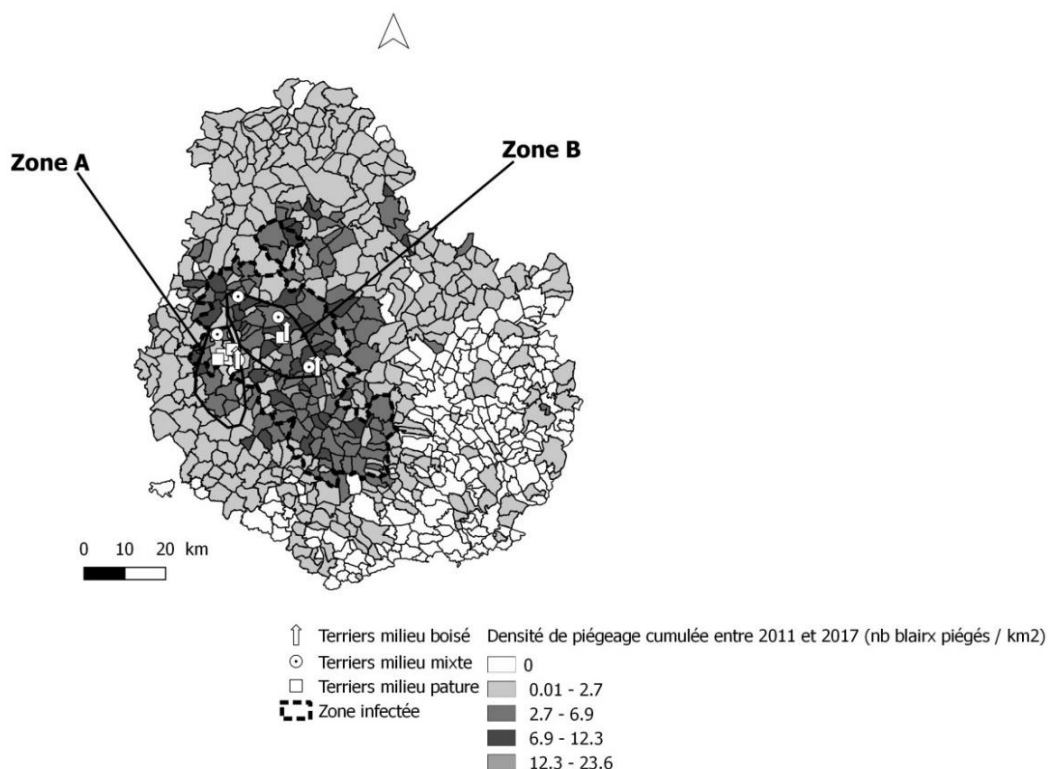
2. VIDEOSURVEILLANCE

Nous avons utilisé 40 pièges photo/vidéographiques avec détecteur infra-rouge, se déclenchant au mouvement (25 StealthCam® G42NG, 10 Cuddeback® Attack IR, 3 Bushnell® Trophy Cam et 2 ScoutGuard 560k). Les caractéristiques de chacun des modèles étaient proches en termes de limite de détection (10-15m selon la taille de l'animal et la température) et de vitesse de déclenchement (1 à 2 secondes). Ils étaient programmés pour fonctionner en continu et prendre des vidéos de 20 ou 30 secondes selon les appareils. Une à cinq caméras étai(en)t installée(s) par terrier en fonction de sa configuration, de sa taille et de son activité, à une hauteur de 1m à 1,60m avec une orientation vers la ou les gueule(s) de terrier active(s) et/ou appâtée(s) selon la phase de l'étude.

Les terriers ont été surveillés en continu entre le 8 mars et le 8 août 2018. La position des caméras pouvait cependant être modifiée selon les zones d'activité du terrier (déterminées sur la base d'indices de présence tels que déblais frais, litière et empreintes) et le choix des gueules appâtées.

Pour chaque caméra, nous avons défini une session comme une période de fonctionnement continu caractérisée par un positionnement sur le terrier et, le cas échéant, par une phase de distribution d'appâts (pré-appâtage ou appâtage). En dehors de ces phases de distribution, la durée des sessions était plus longue afin de minimiser le dérangement sur les terriers. Sur l'ensemble de la période d'étude, les sessions ont duré en moyenne 28 jours (min : 1 jour ; max : 90 jours).

Figure 1
Site d'étude en Côte-d'Or



3. DISTRIBUTION DES APPATS

Nous avons utilisé l'appât mis au point et produit (de façon non-commerciale) en Angleterre par l'APHA (*Animal and Plant Health Agency*) dans le cadre du développement du vaccin BCG oral. La partie appétente de l'appât (PT), développée par *Pest-Tech® Ltd New Zealand and Connovation Ltd. (Manukau, New Zealand)*, est principalement constituée de beurre d'arachide, complétée de céréales et de sucre. L'appât a une forme cylindrique remplie en son centre par une matrice lipidique (huile d'arachide solidifiée ou HPO), destinée à contenir le vaccin BCG et entourée à la base par une autre couche de HPO pour un poids total de 15g [Gowtage *et al.*, 2017 ; Palphramand *et al.*, 2017]. Les blaireaux étant naïfs vis-à-vis de ces composés et des études précédentes montrant que le pré-appâtage augmentait la prise des appâts [Robertson *et al.*, 2016 ; Palphramand *et al.*, 2017], des pré-appâts, constitués uniquement de la même partie appétente (PT) ont été distribués en amont de la période d'appâtage.

Les terriers ont été pré-appâtés et appâtés au printemps (entre le 19 mars et le 15 avril) et en été (entre le 9 juillet et le 3 août). Un des terriers inclus dans l'étude au printemps n'était plus occupé en été et a donc été remplacé.

Au printemps, le protocole de déploiement a été le suivant : les pré-appâts ont été distribués quotidiennement de J-7 à J0, puis les appâts de J1 à J4 dans les gueules des terriers. En été, ce protocole a été modifié dans le but :

1. de diminuer le dérangement occasionné par la distribution des appâts observé au printemps,
2. de tenir compte du fait que les blaireaux n'étaient plus naïfs vis-à-vis des appâts et
3. d'avoir une meilleure visibilité des animaux interagissant avec les appâts.

Les pré-appâts ont ainsi été distribués à J-6 et J-4 et les appâts à J1 et J3, dans les gueules pour 10 des 15 terriers et devant les gueules pour les cinq terriers restants. Puis, à J8, J13 et J18, les appâts ont été distribués devant les gueules de tous les terriers, placés sous des pierres, pour permettre une meilleure observation des animaux interagissant avec les appâts. Le nombre de pré-appâts et d'appâts distribués par jour et par terrier était fonction de la taille du terrier et du nombre de gueules semblant actives. Ainsi, 18 appâts par terrier et par jour ont été distribués en moyenne avec un minimum de six et un maximum de 40. Entre deux et quatre appâts étaient distribués par gueule. En été, les appâts ont été placés dans des enveloppes biodégradables (fournies par

l'APHA) afin de limiter leur dégradation causée par les températures élevées.

Lors de chaque distribution d'appâts, puis dans les jours suivant la distribution (jusqu'à J16 au printemps et jusqu'à J23 en été), les nombres d'appâts visibles restants (*i.e.* non consommés jusqu'alors) et, le cas échéant, nouvellement distribués étaient notés pour chacune des gueules appâtées au sein de chaque terrier.

4. ANALYSES

4.1 VIDEOSURVEILLANCE

Pour chaque vidéo collectée par les pièges vidéographiques, nous avons identifié l'espèce et noté la date et l'heure de la prise. Il n'était pas possible de distinguer les différentes espèces de petits rongeurs entre elles, elles ont donc été regroupées dans le groupe d'espèces « petits rongeurs ». La distinction entre martre (*Martes martes*) et fouine (*Martes foina*) étant impossible sur certaines vidéos, nous les avons regroupées. De même, les différentes espèces d'oiseaux ont également été regroupées.

L'unité d'analyse était la visite, définie par l'observation d'au moins un individu d'une espèce ou groupe d'espèces donnés sur une ou plusieurs vidéos consécutives provenant d'une même caméra et se suivant dans un intervalle inférieur ou égal à 15 minutes. Ainsi, les vidéos composant la visite constituent des observations non indépendantes et chaque visite, dont la durée n'a pas de limite (tant que les vidéos s'enchaînent dans un intervalle inférieur ou égal à 15 minutes) est considérée, pour les analyses, comme un événement indépendant. Cet intervalle de 15 minutes a été déterminé sur la base de précédentes études conduites sur les mêmes espèces dans les mêmes biotopes [Payne *et al.*, 2016, 2017] et sur la base des lectures vidéos obtenues dans cette étude. Il permet de limiter le biais induit par les « fausses absences » (images vides dues au déclenchement trop lent de l'appareil par rapport au passage de l'animal dans le champ) et permet de lisser les différences de temps de déclenchement et de durée de vidéos pouvant exister entre les modèles d'appareils utilisés.

À chaque visite correspond une espèce, un nombre maximal d'individus observés et le comportement vis-à-vis de l'appât en période d'appâtage (renifle/emporte/mange/indifférent). Plusieurs comportements pouvaient être enregistrés pour une visite, soit parce qu'ils étaient adoptés par différents individus, soit parce qu'un individu les adoptait consécutivement.

Nous avons calculé l'occurrence des visites, exprimée en pourcentage, correspondant au ratio du nombre de visites d'une espèce donnée sur le nombre total de visites observées sur l'ensemble des terriers. Puis pour chacun des terriers, nous avons calculé le taux de visite défini ci-dessous et la moyenne de ce taux pour chacune des espèces observées :

Taux de visites (exprimé en pourcentage) = nombre de visites d'une espèce donnée sur un terrier donné / nombre total de visites calculé sur le terrier donné.

Afin de tenir compte de la pression de surveillance (nombre de caméras et durée de fonctionnement) variable selon les terriers, nous avons calculé, pour chaque espèce et terrier, la fréquence de visite, correspondant au ratio du nombre de visites d'une espèce donnée divisé par le nombre de caméras-jours (cumulant sur le terrier et la session la totalité des jours de fonctionnement de chaque caméra présente).

Une analyse factorielle sur données mixtes a permis d'étudier l'association entre la fréquence de visite de chaque espèce et les variables suivantes : paysage, saison, niveau de piégeage sur les années précédentes, piégeage pendant l'étude, activité des blaireaux, phase (tableau 1).

Puis, nous avons réalisé une analyse de niche pour identifier les caractéristiques qui séparent au mieux les barycentres des niches des différentes fréquences de visites par espèce non cible dans l'espace écologique (défini par les variables listées dans le paragraphe précédent). Ces analyses ont été faites en utilisant les packages FactoMineR et Adehabitat HS du logiciel R (version 3.5.2).

Tableau 1

Description des variables utilisées dans les analyses des données issues de la vidéosurveillance

Variable	Type	Description
Paysage	Qualitative 3 classes	Fondées sur le pourcentage de couvert végétal (bois, haie, zone arborée) dans une zone de tampon de 300m autour des terriers : Ouvert : [0-30 %] Mixte :]30-60 %] Forêt : [60-100 %]
Saison	Qualitative 3 classes	Hiver/printemps/été
Niveau de piégeage	Qualitative 3 classes	Fondées sur la densité de prélèvement cumulés (nb de blaireaux piégés/km ²) entre 2011 et 2017 sur la commune où se trouve le terrier étudié (Source : DDPP21). 1 : [0-2] 2 :]2-10] 3 : ≥ 10
Piégeage pendant l'étude	Qualitative 2 classes	Présence/absence de collets sur les terriers pendant étude ⇒ Oui/non
Activité des blaireaux	4 classes : 1, 2, 3 et 4	Fréquence de visite des blaireaux sur le terrier pendant la session donnée : 1 : [0-0,05[; 2 :]0,05-0,2[; 3 : [0,2-0,5[; 4 : [0,5-0,9] Sur base des données issues de la vidéosurveillance
Phase	Qualitative 3 classes	Fondée sur le protocole : Appâtage dans les gueules de terrier Appâtage devant les gueules de terrier Pas d'appâtage

4.2 SUIVI DE LA DISPARITION DES APPATS

Sur la base du nombre d'appâts restants et distribués enregistrés, nous avons calculé le taux de disparition

$$\text{Taux de disparition} = \frac{(\text{nombre d'appâts disponibles au passage } n-1) - (\text{nombre d'appâts restant au passage } n)}{\text{nombre d'appâts disponibles au passage } n-1}$$

Lors de la distribution dans les gueules de terrier, certains appâts glissaient au fond de la galerie et n'étaient plus visibles. Seuls les appâts observables ont été pris en compte pour ce calcul.

Afin de déterminer quels facteurs faisaient varier ce taux de disparition, nous l'avons modélisé au moyen d'un modèle linéaire généralisé mixte (en utilisant un lien logit suivant une loi de Poisson)—Afin de limiter le nombre de variables explicatives et de gagner en puissance dans le modèle, nous avons choisi de ne tester que la variable zone (A ou B) qui regroupe des caractéristiques paysagères et des intensités de piégeage différentes (cf. § II-1). Le terrier a été considéré comme une variable aléatoire afin de tenir compte du lien d'interdépendance entre les visites au sein d'un même terrier. Le protocole de distribution ayant été asymétrique entre le printemps et l'été, nous avons créé une variable « traitement » combinant la saison et le type de distribution (dans

des appâts entre chaque distribution, puis entre chaque passage, de la façon suivante :

ou devant la gueule). Nous avons testé si la disparition évoluait au cours du temps en incluant une variable « jour » catégorielle comportant deux catégories : avant le 8^{ème} jour et au-delà du 8^{ème} jour (tableau 2).

Dans un deuxième temps, afin d'explorer l'effet de la saison sur la disparition des appâts, nous avons extrait les données correspondant à la seule distribution dans la gueule de terrier. Le taux de disparition des appâts a été modélisé de la même manière que pour le premier modèle en remplaçant la variable « traitement » par la variable « saison » (printemps ou été).

Pour les deux analyses, 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. La significativité des différences entre les modalités des variables a été évaluée en utilisant le test de Wald. L'ajustement des modèles a été évalué en calculant le pseudo R^2 fournissant le coefficient de

détermination conditionnel (R2c, interprété comme la variance expliquée par la partie fixe et la partie aléatoire) et marginal (R2m, représentant la variance expliquée par la partie fixe) pour les modèles généralisés mixtes. La variance expliquée par la partie aléatoire est alors obtenue en soustrayant R2m - R2c.

Ces analyses ont été réalisées en utilisant les packages lme4 et MuMIn du logiciel R (version 3.5.2).

Tableau 2

Description des variables testées dans le modèle mixte de suivi de la disparition des appâts

Variable	Type	Description
Zone	Qualitative 2 classes	Modalités : A/B (cf. II-1 site d'étude)
Traitement	Qualitative 3 classes	Modalités : appâts distribués au printemps dans les gueules de terrier/en été dans les gueules de terrier/en été devant les gueules de terrier
Jour	Qualitative 2 classes	Modalités : de J1 à J7/Au-delà de J8
Nombre de visites de blaireaux	Quantitatif	Nombre de visites de blaireaux cumulées entre les deux passages (min : 0 ; max : 14)
Nombre de visites des espèces non cibles	Quantitatif	Nombre de visites des espèces autres que blaireaux cumulées entre les deux passages (min : 0 ; max : 29)
Terrier	Effet aléatoire	

III - RÉSULTATS

1. VIDÉOSURVEILLANCE

1.1 DONNEES COLLECTEES ET OCCURRENCE DES ESPECES

Nous avons enregistré 8 350 vidéos et identifié 2 766 visites sur toute la durée de l'étude. Onze visites (<1 %) ont été exclues car les images ne permettaient pas d'identifier l'espèce ou groupe d'espèces ayant déclenché l'appareil.

Quinze espèces ou groupes d'espèces ont été identifiés. Le Blaireau a été observé sur 14 des 15

terriers surveillés et a été l'espèce la plus fréquente, avec 30,6 % du total des visites. Par ordre décroissant, les espèces les plus fréquemment observées ont ensuite été les bovins, le Renard (*Vulpes vulpes*), le Chevreuil (*Capreolus capreolus*) et les oiseaux (tableau 3). Certaines espèces comme les oiseaux, le Renard, le Chevreuil ou le Chat sauvage (*Felis sylvestris*) ont été identifiées sur la plupart des terriers tandis que d'autres comme les bovins, les petits rongeurs ou le Ragondin (*Myocastor coypus*) n'ont été observées que sur un nombre limité de terriers (tableau 3).

Tableau 3
Occurrence (%), nombre de terriers avec observations et taux de visite moyen,
minimum et maximum par espèce ou groupe d'espèces,
observés par vidéosurveillance sur les 15 terriers pendant la période d'étude

Espèce ou groupe d'espèces	Occurrence	Nombre de terriers avec observation (N total =15)	Taux de visite moyen	Minimum	Maximum
Blaireau	30,6	14	33,6	0	84,6
Bovin	23,6	6	12,2	0	60,9
Renard	12,3	13	11,0	0	30,5
Chevreuil	11,0	14	16,5	0	75,0
Oiseaux*	8,6	13	7,2	0	39,8
Chat sauvage	3,4	12	11,9	0	100
Ragondin	2,7	1	1,0	0	15,5
Petits rongeurs	2,1	5	1,3	0	7,0
Martre-fouine	2,1	9	1,8	0	6,9
Lièvre	1,9	9	1,5	0	5,1
Sanglier	0,7	7	1,2	0	4,4
Chat domestique	0,5	6	0,3	0	1,4
Ecureuil	0,2	5	0,3	0	1,5
Lapin	0,2	3	0,2	0	1,3
Chien	0,2	2	0,3	0	4,2

* espèces les plus fréquentes : merle noir (*Turdus merula*), corneille noire (*Corvus corone*), geai des chênes (*Garrulus glandarius*) et pie bavarde (*Pica pica*)

1.2 FREQUENCE DES VISITES ET FACTEURS ASSOCIES

Nous avons étudié la fréquence des visites et les facteurs associés pour les espèces dont l'occurrence globale était supérieure à 2 % (cf. §-tableau 3). Le Lièvre d'Europe (*Lepus europaeus*), le Sanglier, le chat domestique, l'Ecureuil, le Lapin et le Chien ont ainsi été exclus de cette analyse. La fréquence des visites a été en moyenne toutes espèces confondues de 0,59 visites/caméra-jour, avec une moyenne par terrier variant de 0,12 à 2,09 visites/caméra-jour. Les deux terriers qui ont reçu le plus de visites sont des terriers situés en pâture et les bovins ont constitué la majorité des visites. Le tableau 4 présente la distribution des fréquences de visite par espèce.

L'analyse de niche révèle un premier axe qui exprime 84 % de la marginalité (graphe eigenvalues, figure 2). Les coordonnées des variables paysage et saison sur cet axe montrent un gradient d'ouverture du paysage (forêt en négatif, mixte proche de 0 et ouvert en positif) et de la saison (hiver en négatif, printemps proche de 0 et été en positif).

Combinées aux analyses factorielles réalisées par espèce, ces analyses suggèrent les résultats suivants :

- Les visites par les petits rongeurs et bovins sont les plus importantes en été, dans un milieu ouvert et lors d'un appâtage devant les gueules de terriers ;

Tableau 4

**Fréquence moyenne des visites par terrier et par phase en nombre de visites
pour 100 caméras-jour ± erreur standard.**

Calcul sur la totalité de l'étude, puis en distinguant la phase d'appâtage et la saison

Espèce	Fréquence moyenne	Hors appâtage	Appâtage dans gueule		Appâtage devant gueule
			Printemps	Eté	Eté
Blaireau	16,3 ± 2,9	24 ± 5,1	16,6 ± 7,4	8,7 ± 4,1	4,8 ± 2,5
Bovin	18,0 ± 5,5	15 ± 7,8	13,2 ± 7,5	20,8 ± 17,2	26,7 ± 16,2
Renard	5,6 ± 1,0	6,6 ± 1,7	7,2 ± 2,6	5,1 ± 2,8	2,4 ± 1,3
Chevreuil	5,2 ± 0,9	7,0 ± 1,7	4,3 ± 1,7	3,8 ± 1,2	3,5 ± 1,5
Oiseaux	4,7 ± 1,1	6,5 ± 2,0	4,9 ± 1,7	1,6 ± 1,6	3,2 ± 2,3
Chat sauvage	2,0 ± 0,5	1,9 ± 0,5	0,5 ± 0,2	2,6 ± 1,1	3,4 ± 2,2
Ragondin	2,4 ± 1,3	3,8 ± 2,8	0,6 ± 0,6	-	2,7 ± 2,7
Petits rongeurs	1,3 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,6	0,3 ± 0,3	3,0 ± 2,0
Martre-fouine	0,8 ± 0,4	0,6 ± 0,2	2,1 ± 1,6	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,2

- À l'opposé, sur l'axe 1 du graphique principal (graphe *Samples and species*, figure 2), on trouve une niche associant visites de chat sauvage et de chevreuil, caractérisée par un milieu mixte ou boisé et les saisons printemps et hiver. Les visites de chevreuil sont associées à la phase hors appâtage alors que celles du chat sauvage sont davantage liées à la phase d'appâtage, devant les gueules des terriers. En outre, les visites de chat sauvage sont associées à un faible niveau de piégeage passé ;
- Les oiseaux ont plutôt été observés en milieu ouvert, en été et lorsque les appâts étaient disposés devant les gueules ou même hors phase d'appâtage ;
- Les martres ou fouines sont plutôt observées au printemps dans tous les milieux, et avec une distribution des appâts dans les gueules ;
- Les visites par des renards sont observées à la fois en milieu boisé et en milieu ouvert, plutôt hors période d'appâtage ;
- Le ragondin détecté sur un seul terrier n'a pas été inclus dans l'analyse.

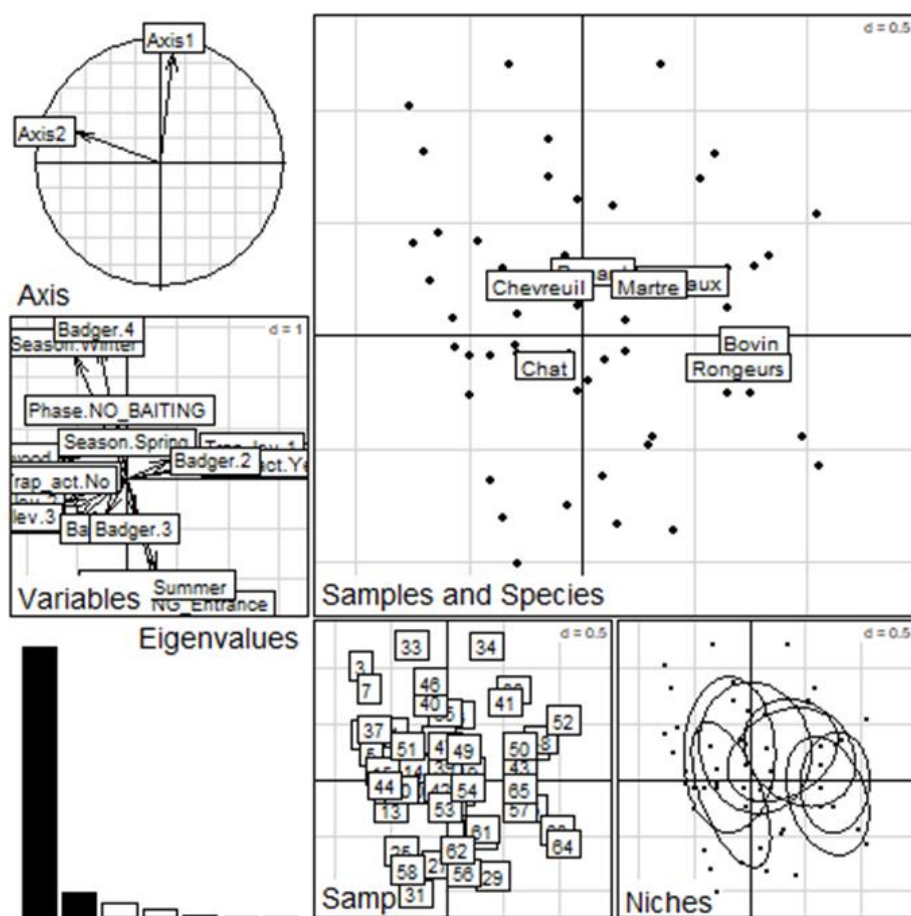
Il apparaît, d'après ces analyses, que la présence de ces espèces est peu influencée par l'activité des blaireaux (mesurée par le nombre de visites sur les terriers) et le piégeage passé ou concomitant à l'étude (à l'exception du chat sauvage).

1.3 COMPORTEMENTS VIS-A-VIS DES APPATS

Toutes les espèces observées en présence d'appâts ont été vues renifler l'appât, à l'occasion d'au moins une visite. En revanche, seules certaines espèces ont été observées en train de le manger ou de l'emporter. Il s'agit du Blaireau, des bovins, des oiseaux, du Ragondin, des petits rongeurs, des martres/fouines et du Renard. L'observation de ces comportements a été plus fréquente lorsque l'appât était distribué devant les gueules. Seuls des renards, martres/fouines (visualisation de l'animal rentrant dans la gueule et ressortant avec l'appât) et oiseaux (une seule visite de corneille) ont été observés manger ou emporter l'appât lorsque ceux-ci étaient placés dans les gueules (tableau 5).

Figure 2

Résultats de l'analyse de niche réalisée sur les espèces non cibles



Les oiseaux ont été le groupe d'espèces le plus fréquemment vu manger ou emporter l'appât en proportion de leur nombre de visites. Les espèces d'oiseaux ayant ces comportements étaient la Pie bavarde (*Pica pica*), la Corneille noire (*Corvus corone*) et le Geai des chênes (*Garrulus glandarius*). Les bovins ont souvent présenté un comportement de curiosité vis-à-vis de l'appât et ont été observés lécher les appâts (comportement considéré comme étant de la consommation) dans 3 % des visites (quatre événements sur 128 visites devant les gueules) (tableau 5).

2. SUIVI DE LA DISPARITION DES APPÂTS

Le taux de disparition moyen par terrier et par phase entre deux passages a été de $0,55 \pm 0,37$. Il était plus élevé quand les appâts étaient distribués devant les gueules ($0,87 \pm 0,21$) que dans les gueules ($0,43 \pm 0,34$).

Le modèle sélectionné inclut la zone, le traitement et le jour de passage (variables catégorielles - cf. tableau 2) : le taux de disparition est significativement plus faible en zone B par rapport à la zone A, et au-delà des huit jours suivant le 1^{er} jour d'appâtage. Il décroît graduellement entre les traitements « été devant gueule », « été dans gueule » et « printemps dans gueule » (tableau 6 et figure 3A).

Avec le sous-jeu de données pour lequel les appâts étaient distribués dans les gueules, le modèle sélectionné montre des effets significatifs de la zone et des jours suivant l'appâtage comparable au premier modèle. Il met en outre en évidence que les appâts, lorsqu'ils sont placés dans les gueules, disparaissent plus vite en été qu'au printemps et quand les espèces non cibles observées sur le terrier sont plus nombreuses (tableau 6 et figure 3B).

Tableau 5
Nombre de visites par espèce en présence d'appâts et proportion des visites dans lesquelles différents comportements vis-à-vis de l'appât ont été observés selon le mode de distribution

ESPÈCE	APPATS DANS GUEULES				APPATS DEVANT GUEULES			
	Nb visites en présence d'appâts	Renifle	Mange	Emporte	Nb visites en présence d'appâts	Renifle	Mange	Emporte
Blaireau	71	12 (2,8 %)	0	0	29	14 (48,3 %)	1 (3,4 %)	1 (3,4 %)
Bovin	36	1 (2,8 %)	0	0	128	43 (33,6 %)	4 (3,1 %)	0
Renard	24	15 (62,5 %)	2 (4,2 %)	0	19	17 (89,5 %)	1 (5,3 %)	3 (15,8 %)
Chevreuil	43	2 (4,6 %)	0	0	43	2 (4,6 %)	0	0
Oiseaux	27	0	0	1 (3,7 %)	34	5 (14,7 %)	6 (17,6 %)	6 (17,6 %)
Chat sauvage	9	2 (22,2 %)	0	0	12	2 (16,7 %)	0	0
Ragondin	2	1 / 2	0	0	29	3 (10,3 %)	2 (6,9 %)	0
Petits rongeurs	6	0	0	0	23	8 (34,8 %)	3 (13,0 %)	0
Martre/fouine	15	3 (20 %)	1 (6,7 %)	1 (6,7 %)	4	2/4	0	0
Lièvre	7	0	0	0	9	2 (22,2 %)	0	0
Sanglier	1	1	0	0	0			
Chat domestique	3	0	0	0	5	1	0	0
Ecureuil	2	0	0	0	2	1	0	0
Total	247	36	3	3	323	100	17	10

Tableau 6

Modèles sélectionnés pour expliquer le taux de disparition des appâts à partir du jeu de données complet et le sous-jeu de données correspondant à la distribution dans les gueules uniquement.

Pour chaque modèle, le tableau donne les variables retenues, les modalités comparées, l'odds ratio estimé avec son intervalle à 95 %, la p-value du test de Wald ainsi que les coefficients de détermination marginal et conditionnel

Jeu de données	Variable explicatives	Modalités	OR et intervalle de confiance	p-value du test de Wald	R2m	R2c
Complet	Zone ^a	B	0,69 [0,48-0,95]	0,01	0,61	0,74
	Traitement ^b	Été dans gueule	2,307 [1,96-2,72]	< 0,001		
		Été devant gueule	2,97 [2,49-3,55]	< 0,001		
	Jours ^c	> 8 jours	0,77 [0,64-0,91]	0,003		
Distribution dans gueule uniquement	Zone ^a	B	0,63 [0,42-0,92]	0,01	0,55	0,71
	Saison ^d	Printemps	0,47 [0,40-0,57]	< 0,001		
	Jour ^c	> 8 jours	0,54 [0,40-0,73]	< 0,001		
	Nb visites espèces non cibles		1,06 [1,02-1,11]	0,008		

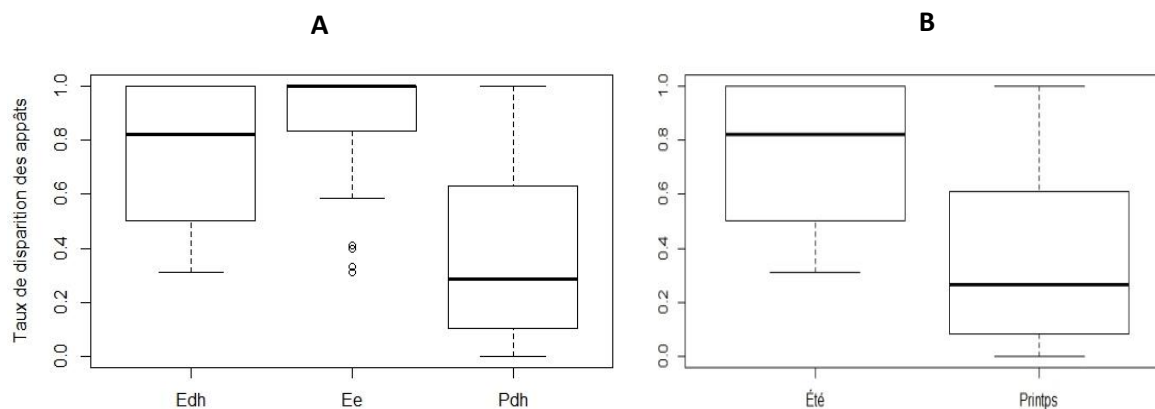
^a Référence : zone A ; ^b Référence : printemps dans les gueules ; ^c Référence : ≤ 8jrs ; ^d Référence : été

Pour le premier modèle, la variabilité expliquée par le terrier (effet aléatoire) est de 13 % tandis que dans le 2^{ème} modèle, le terrier explique 16 % de cette variabilité.

Figure 3

Box plot du taux de disparition en fonction de la saison et du mode de distribution

A : pour tout le jeu de données, en fonction des différents traitements
(Edh : été dans gueule, Ee : été devant gueule, Pdh : printemps dans gueule).
B : pour la distribution dans les gueules uniquement selon la saison

**IV - DISCUSSION**

Cette étude met en exergue que l'appât PT, mis au point en vue de la vaccination orale du blaireau contre la tuberculose bovine est appétant pour une variété importante d'espèces non cibles présentes en zone infectée de Côte-d'Or. Bovin, Renard, Chevreuil, oiseaux et Chat sauvage ont été les espèces (ou groupe d'espèces) les plus fréquemment observées sur les terriers surveillés, mais leur répartition selon les milieux dans lesquels se trouvaient les terriers et leur comportement vis-à-vis de l'appât diffèrent selon les espèces. Présents sur une majorité des terriers, parfois en cohabitation avec les blaireaux, comme nous l'avons observé sur certains terriers, les renards apparaissent comme les plus à risque d'entrer en compétition avec les blaireaux pour la consommation des appâts, y compris lorsqu'ils sont distribués dans les gueules. Les autres groupes d'espèces observés emporter ou consommer l'appât lorsque celui-ci était distribué dans les gueules sont la martre ou la fouine et les oiseaux mais ces événements sont apparus très rares, sur la base de la vidéosurveillance. Quant aux bovins, cette étude est la première à montrer qu'ils sont susceptibles de consommer l'appât s'ils y ont accès.

En Angleterre, dans une étude similaire, dans laquelle des appâts constitués de PT étaient disposés dans les gueules ou sous des dalles devant les gueules, les observations d'espèces non cibles ont représenté, en moyenne sur chaque terrier, 65 % du total des observations avec également une forte variabilité selon les terriers (écart-type : 31 %). La variété des espèces observées fréquentant les terriers était un peu moins importante (10 espèces vs 15 dans

notre étude) et certaines espèces diffèrent entre cette étude et la nôtre : le Muntjac (*Muntiacus reevesi*), le vison d'Amérique (*Neovison vison*) et le faisan Colchide (*Phasianus colchicus*) sont ainsi rapportés. A l'inverse, aucune des études conduites en Angleterre testant l'appétence de différents appâts (avec les mêmes constituants de base) ne rapporte d'observation de bovin, chat sauvage, sanglier, martre ou fouine [Robertson *et al.*, 2015, 2016 ; Palphramand *et al.*, 2017]. Dans ces mêmes études, seuls les rongeurs (*Rattus norvegicus*, *Apodemus spp* et *Myodes glaeolus*) et l'Écureuil roux ont été observés manger ou emporter les appâts. Selon l'étude de Robertson *et al.*, 2015, ces comportements ont concerné 2,8 % (19/238) des observations de rongeurs et 14,3 % (3/7) des visites d'écureuil, résultant dans la prise de 3 % (131/4 320) des appâts distribués (uniquement lorsque les appâts étaient disposés sous les dalles). Renards, écureuils gris, chats domestiques et chiens ont été observés renifler les appâts ou les dalles mais aucun comportement de consommation des appâts n'a été enregistré. Pour les bovins, cette absence d'observation est à pondérer par le fait que seuls deux des terriers appâtés (dans les gueules de terrier uniquement) leur étaient accessibles [Robertson *et al.*, 2015].

En France, un premier test de déploiement d'appâts sans vaccin a été réalisé sur huit terriers dans une zone non infectée (dans l'Ain) à l'automne 2016 et au printemps 2017, dans lequel l'appétence du PT était comparée à celle du maïs grain avec un placement des appâts sous des dalles disposées sur plusieurs points du terrier (Ruelle *et al.*, données non publiées). Treize espèces ou groupe d'espèces

avaient été alors identifiées sur les vidéos. A l'instar de notre étude, des renards, des petits rongeurs et des oiseaux ont été vus consommer l'appât. En outre, chien et chevreuil ont aussi été observés adopter un tel comportement. D'autres espèces ont présenté un comportement indifférent quoiqu'ayant été filmées à proximité des appâts : martre, fouine, putois d'Europe (*Mustela putorius*), sanglier, chat domestique, chat forestier, oiseaux, ragondin, lièvre d'Europe et écureuil se sont intéressés aux appâts (reniflements) sans les consommer.

La comparaison entre les études françaises et anglaises suggère une plus grande variété d'espèces potentiellement consommatrices des appâts PT en France qu'en Angleterre, tout du moins dans les zones où ont été conduites ces études. À l'échelle régionale, la présence ou l'absence de certaines espèces dans les différents territoires explique une partie de ces différences : par exemple, le vison d'Amérique et le muntjac sont absents des sites d'étude français tandis que le sanglier et le chat sauvage sont absents dans les zones d'étude anglaises. Il est cependant plus surprenant que des espèces telles que le renard, la corneille noire et la pie bavarde n'aient pas été observées consommer les appâts en Angleterre alors qu'elles y sont présentes. Comme dans notre étude, les travaux anglais décrivent une importante variabilité inter-terriers et les résultats de notre analyse de niche attestent que le paysage local environnant le terrier influence les espèces qui le fréquentent. Le risque de prise d'appât par les espèces non cibles doit donc être considéré à une échelle locale.

La présente étude ainsi que l'étude réalisée dans l'Ain montrent qu'en France, l'appât peut être attractif pour un large spectre de mammifères ayant des régimes herbivores, omnivores ou carnivores. Ces résultats ne sont pas en faveur d'une bonne sélectivité de l'appât sélectionné, sélectivité qui n'était pas un objectif majeur lors de son développement car celle-ci doit, *a priori*, être assurée par un mode de distribution au terrier en Angleterre [Lesellier, communication personnelle]. De plus, sa relative appétence pour les bovins pose le problème de l'interférence avec les tests de dépistage. En effet, une expérimentation a montré que l'ingestion par des veaux de capsules lipidiques contenant du BCG à la dose de 10^8 cfu (dose envisagée par appât pour la vaccination du blaireau) pouvait entraîner des réactions positives à l'intradermotuberculination [Buddle *et al.*, 2005]. Sur le plan opérationnel, il serait donc indispensable que les bovins ne puissent avoir accès aux appâts. Un premier moyen pourrait être de distribuer les appâts à l'intérieur des gueules (mais la possibilité qu'un animal remonte à la surface un certain nombre d'appâts, suffisants pour « positiver » un bovin ne peut être exclue). Ensuite, la période de distribution

des appâts, en les distribuant lorsque les bovins ne sont pas au pâturage (en Côte-d'Or, par exemple, la majorité des bovins sont rentrés entre novembre et avril), permettrait de limiter l'exposition des bovins au vaccin, mais cela doit rester compatible avec la période optimale de prise par les blaireaux. Enfin, lorsque la configuration le permet, une clôture empêchant l'accès des bovins au terrier est toujours souhaitable ; elle est déjà recommandée dans le cadre de mesures de biosécurité (Source : DGAL/SDSPA/2018-708 ; Anses, sous presse). Là encore, la possibilité qu'un appât soit transporté et rendu accessible aux bovins n'est cependant pas à exclure. Au vu de ces éléments, le développement actuel en Espagne d'un vaccin *M. bovis* inactivé par la chaleur présentant une meilleure innocuité et n'induisant pas de réactions positives par ingestion chez les bovins [Jones *et al.*, 2016 ; Díez-Delgado *et al.*, 2018] apparaît comme une alternative intéressante pour pallier les contraintes liées à l'utilisation du BCG. L'utilisation d'un appât moins attractif pour les bovins pourrait également être envisagée. L'appétence pour les blaireaux d'un appât carné a été testée dans plusieurs études conduites en Angleterre. Le taux de prise de ce type d'appât, mesuré par biomarqueur se trouvait compris entre 22 et 51 % selon les études et le mode de distribution qui différait de la présente étude (disposition le long de transects ou autour des terriers) [Cagnacci *et al.*, 2007 ; Palphramand *et al.*, 2012]. Étant donné le régime herbivore des bovins, un tel appât ne serait probablement pas appétant pour cette espèce. Il faudra toutefois s'assurer que leur curiosité ne les amène pas à renifler voire à lécher ce type d'appât et que ces composants soient compatibles avec la stabilité et la délivrance *per os* du vaccin pour le blaireau. De plus, la sélectivité ne serait pas assurée pour les espèces carnivores ou omnivores que nous avons observées fréquenter les terriers telles que renard, mustélidés, chat sauvage ou oiseaux (corneille noire et pie bavarde).

Dans le cas du système multi-hôtes de *M. bovis* en France, la possibilité de vacciner plusieurs espèces hôtes au moyen d'un même appât pourrait être une stratégie efficace. D'après les résultats de notre étude, le renard se trouve parmi les espèces non cibles ayant montré une appétence pour l'appât et appartenant à la communauté d'hôtes sauvages de *M. bovis* présents dans cette zone. Son rôle épidémiologique est mal connu et est actuellement à l'étude [Michelet *et al.*, 2018]. Nos résultats montrent qu'une proportion de renards (et potentiellement celle qui pourrait être particulièrement à risque de tuberculose car exposée à l'infection chez les blaireaux *via* le partage des terriers) pourrait être vaccinés par ce mode de distribution. Il serait cependant nécessaire d'évaluer précisément le taux de prise par les renards et surtout des études expérimentales seraient indispensables

pour connaître l'efficacité et l'innocuité, pour cette espèce, d'un vaccin prévu initialement pour le blaireau. Le sanglier, autre espèce hôte de *M. bovis* en France et notamment en Côte-d'Or, a très peu été observé sur les terriers surveillés (tout comme dans l'étude précédente réalisée dans l'Ain). Une éventuelle vaccination de cette espèce contre la tuberculose bovine devrait faire intervenir un autre mode de distribution (et potentiellement une autre formulation). L'expérience de la vaccination contre la peste porcine classique en France et en Allemagne [Rossi *et al.*, 2015] et les tests actuellement conduits en Espagne pour la vaccination des sangliers avec *M. bovis* inactivé par la chaleur [Ballesteros *et al.*, 2011] pourraient être des pistes à investiguer si la vaccination orale du sanglier était envisagée en France.

Les résultats des analyses réalisées dans la présente étude montrent que le taux de disparition des appâts est plus faible au-delà des huit jours suivant le 1er jour de distribution. Ce résultat n'est pas concordant avec les précédentes études conduites en Angleterre décrivant un taux de disparition augmentant avec le temps, suggérant un phénomène de néophobie puis d'habituation [Palphramand *et al.*, 2017 ; Robertson *et al.*, 2016 ; Carter *et al.*, 2018]. Notre résultat pourrait s'expliquer par la dégradation des qualités organoleptiques de l'appât, devenant moins appétant (pour les blaireaux comme pour les espèces non cibles) au fil des jours. Cette explication n'est cependant valable que pour le printemps où il n'y avait plus de nouveaux appâts distribués après quatre jours (en été, de nouveaux appâts étaient distribués jusqu'au 18^{ème} jour, mais la température était beaucoup plus élevée). Une autre explication pourrait être un dérangement progressif engendré par la distribution des appâts ayant amené les blaireaux à quitter le terrier au bout de plusieurs jours (nous l'avons en effet constaté sur certains terriers). Un tel comportement adopté par les espèces non cibles pourrait également être une hypothèse, bien qu'il soit probable que leur sensibilité au dérangement humain soit variable selon l'espèce considérée. Cette hypothèse est cohérente avec le fait qu'au niveau des terriers situés en zone B, ayant eu une intensité de piégeage plus importante, la disparition des appâts a été moindre par rapport à la zone A, suggérant une plus grande sensibilité au dérangement des espèces consommatrices des appâts passant sur ces terriers. L'été semble être une saison plus propice à la consommation des appâts que le printemps, même lorsque les appâts sont placés dans les gueules de terrier. Ce résultat est cohérent avec ceux de Palphramand *et al.* [2011] enregistrés en Angleterre avec des appâts à base de beurre d'arachide, mais la méthodologie ne permettait pas de distinguer entre une consommation par les blaireaux ou par les espèces non cibles. Nos résultats suggèrent que les

espèces non cibles seraient davantage responsables de la consommation des appâts en été.

En disposant les appâts devant et non pas dans les gueules, les appâts étaient rendus beaucoup plus accessibles pour les espèces passant sur les terriers et, comme montré par le premier modèle, cette distribution a entraîné une disparition plus rapide des appâts. En termes opérationnels, ce résultat confirme l'intérêt de distribuer les appâts dans les gueules pour limiter la consommation par les espèces non cibles, bien que celles-ci semblent également avoir un impact sur la disparition des appâts lorsqu'ils sont disposés dans les gueules comme suggéré par le deuxième modèle. L'objectif de la distribution des appâts devant les gueules était également de rendre visibles les interactions entre les espèces non cibles et les appâts. Même si le nombre de visites enregistrées montrant un comportement de consommation a été assez faible, il ressort que l'appât peut être appétant pour les oiseaux, les bovins et les rongeurs (petits rongeurs et ragondins). Pour les petits rongeurs et les oiseaux, il est possible que nous ayons sous-estimé leur visite et leur consommation de l'appât, du fait du manque de sensibilité des pièges vidéographiques lorsque les espèces à capturer sont de très petites tailles et/ou très furtives [Marcus Rowcliffe *et al.*, 2011]. Nous avons effectivement constaté, à plusieurs reprises, la disparition des appâts sans qu'aucune vidéo ne montre d'animal consommant ou emportant l'appât. Il est également certain que nous avons sous-estimé la fréquence des consommations d'appâts à l'intérieur des gueules car seuls les animaux sortant de la gueule avec un appât ont pu être visualisés. Pour cette raison, la consommation des appâts par les blaireaux ne peut être évaluée par cette méthode lorsque les appâts sont distribués dans les gueules. Il est en effet probable que des blaireaux aient consommé une grande partie de ces appâts ainsi distribués sans même qu'une visite de cette espèce n'ait été comptabilisée. Cette limite méthodologique pourrait expliquer pourquoi le nombre de visites de blaireaux n'a pas été retenu comme variable explicative du taux de disparition des appâts lorsque ceux-ci étaient distribués dans les gueules uniquement (deuxième modèle). Il est plus étonnant que très peu de blaireaux aient été observés consommant les appâts lorsque ceux-ci étaient disposés en sortie de gueule. Ceci pourrait être en lien avec un abandon du terrier par les blaireaux à la suite du dérangement déjà évoqué plus haut ou à des déplacements saisonniers. L'utilisation d'un biomarqueur intégré dans l'appât et traçable chez les blaireaux une fois ingéré est une méthode beaucoup plus sensible et précise pour estimer le taux de prise d'appâts individuel par les blaireaux [Palphramand *et al.*, 2011, 2017 ; Robertson *et al.*, 2016 ; Carter *et al.*, 2018 ; Cagnacci *et al.*, 2007]. Cette méthode a

été utilisée dans cette étude et les résultats seront prochainement disponibles.

V - CONCLUSION

Cette étude a permis d'apporter des éléments intéressants sur l'impact des espèces non cibles sur un déploiement d'appâts : dans un écosystème comme celui des pâtures de Côte-d'Or, cet impact pourrait être important étant donnée la variété des espèces pour lesquelles l'appât testé est appétant. Dans le cadre d'une distribution dans les gueules, le renard apparaît être l'espèce la plus à risque de diminuer la prise d'appâts par les blaireaux et donc de diminuer l'efficacité d'une vaccination orale visant cette espèce. Tout risque d'exposition des

bovins à ces appâts doit être écarté s'ils contiennent le vaccin BCG. Sur le plan opérationnel, d'après notre étude, la saison et le mode de distribution qui semblent les plus appropriés pour limiter la consommation par les espèces non cibles correspondent à un déploiement au printemps dans les gueules de terrier. L'étude utilisant le biomarqueur mesurant la prise d'appâts chez les blaireaux permettra de voir si ces conditions sont aussi celles d'une meilleure prise d'appâts par les blaireaux.

BIBLIOGRAPHIE

- Anses, Gestion de la tuberculose bovine et des blaireaux, rapport d'expertise collective, 2019, sous presse.
- Ballesteros C., Vicente J., Carrasco-García R., Mateo R., de la Fuente J., Gortázar C. - Specificity and success of oral-bait delivery to Eurasian wild boar in Mediterranean woodland habitats. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2011, **57**(4), 749-757.
- Buddle B.M., Aldwell F.E., Skinner M.A., De Lisle G.W., Denis M., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Wedlock D.N. - Effect of oral vaccination of cattle with lipid-formulated BCG on immune responses and protection against bovine tuberculosis. *Vaccine*, 2005, **23**(27), 3581-3589.
- Cagnacci F., Massei G., Cowan D.P., Walker N., Delahay R.J. - Effects of bait type and deployment strategy on uptake by free-living badgers. *Wildl. Res.*, 2007, **34**(6), 454-460.
- Carter S.P., Chambers M.A., Rushton S.P., Shirley M.D.F., Schuchert P., Pietravalle S., Murray A., Rogers F., Gettinby G., Smith G.C., Delahay R.J., Hewinson R.G., McDonald R.A. - BCG Vaccination Reduces Risk of Tuberculosis Infection in Vaccinated Badgers and Unvaccinated Badger Cubs. *PLoS One*, 2012, **7**(12): e49833.
- Carter S.P., Robertson A., Palphramand K.L., Chambers M.A., McDonald R.A., Delahay R.J. - Bait uptake by wild badgers and its implications for oral vaccination against tuberculosis. *PLoS One*, 2018, **13**(11): e0206136.
- Chambers M.A. *et al.* - The Effect of Oral Vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG on the Development of Tuberculosis in Captive European Badgers (*Meles meles*). *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, **7**(January), 1-12.
- Cliquet F., Aubert M. - Elimination of terrestrial rabies in Western European countries. *Dev. Biol. (Basel)*, 2004, **119**, 185-204.
- Corner L.A.L., Costello E., O'Meara D., Lesellier S., Aldwell F.E., Singh M., Hewinson R.G., Chambers M.A., Gormley E. - Oral vaccination of badgers (*Meles meles*) with BCG and protective immunity against endobronchial challenge with *Mycobacterium bovis*. *Vaccine*, 2010, **28**(38), 6265-6272.
- Corner L.A.L., Murphy D., Gormley E. - *Mycobacterium bovis* Infection in the Eurasian Badger (*Meles meles*): The Disease, Pathogenesis, Epidemiology and Control. *J. Comp. Pathol.*, 2011, **144**(1), 1-24.
- Cross M.L., Buddle B.M., Aldwell F.E. - The potential of oral vaccines for disease control in wildlife species. *Vet. J.*, 2007, **174**(3), 472-480.
- Delavenne C., Pandolfi F., Girard S., Réveillaud É. - Tuberculose bovine : Bilan et évolution de la situation épidémiologique entre 2015 et 2017 en

- France métropolitaine. *Bull. épidémiologique*, 2017, 1-22.
- Díez-Delgado I. *et al.* - Impact of piglet oral vaccination against tuberculosis in endemic free-ranging wild boar populations. *Prev. Vet. Med.*, 2018, **155**, 11-20.
- Gormley E., Bhuachalla D.N., O'Keeffe J., Murphy D., Aldwell F.E., Fitzsimons T., Stanley P., Tratalos J.A., McGrath G., Fogarty N., Kenny K., More S.J., Messam L.L.M. V., Corner L.A.L. - Oral vaccination of free-living badgers (*Meles meles*) with Bacille Calmette Guérin (BCG) vaccine confers protection against tuberculosis. *PLoS One*, 2017, **12**(1): e0168851.
- Gormley E., Corner L.A.L. - Control Strategies for Wildlife Tuberculosis in Ireland. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2013, **60**, 128-135.
- Gortazar C., Díez-Delgado I., Barasona J.A., Vicente J., De La Fuente J., Boadella M. - The Wild Side of Disease Control at the Wildlife-Livestock-Human Interface: A Review. *Front. Vet. Sci.*, 2015, **1**(January), 1-12.
- Gowtage S., Williams G.A., Henderson R., Aylett P., MacMorran D., Palmer S., Robertson A., Lesellier S., Carter S.P., Chambers M.A. - Testing of a palatable bait and compatible vaccine carrier for the oral vaccination of European badgers (*Meles meles*) against tuberculosis. *Vaccine*, 2017, **35**(6), 987-992.
- Jones G.J., Steinbach S., Sevilla I.A., Garrido J.M., Juste R., Vordermeier H.M. - Oral vaccination of cattle with heat inactivated *Mycobacterium bovis* does not compromise bovine TB diagnostic tests. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2016, **182**, 85-88.
- Karolemeas K., Donnelly C.A., Conlan A.J.K., Mitchell A.P., Clifton R.S., Upton P., Wood J.L.N., Mckinley T.J. - The Effect of Badger Culling on Breakdown Prolongation and Recurrence of Bovine Tuberculosis in Cattle Herds in Great Britain. *PLoS One*, 2012, **7**(12), 1-8.
- Lesellier S., Palmer S., Gowtage-Sequiera S., Ashford R., Dalley D., Davé D., Weyer U., Salguero F.J., Nunez A., Crawshaw T., Corner L.A.L., Hewinson R.G., Chambers M.A. - Protection of Eurasian badgers (*Meles meles*) from tuberculosis after intra-muscular vaccination with different doses of BCG. *Vaccine*, 2011, **29**(21), 3782-3790.
- Freuling C. M., Hampson K., Selhorst T., Schröder R., Meslin F.X., Mettenleiter T.C., Müller T. - The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.*, 2013, **368**(1623), 20120142.
- Marcus Rowcliffe J., Carbone C., Jansen P.A., Kays R., Kranstauber B. - Quantifying the sensitivity of camera traps: An adapted distance sampling approach. *Methods Ecol. Evol.*, 2011, **2**(5), 464-476.
- Michelet L., De Cruz K., Hénault S., Tambosco J., Richomme C., Réveillaud É., Gares H., Moyon J.L., Boschirolì M.L. - *Mycobacterium bovis* infection of red fox, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2018, **24**(6), 1151-1153.
- Murphy D., Costello E., Aldwell F.E., Lesellier S., Chambers M.A., Fitzsimons T., Corner L.A.L., Gormley E. - Oral vaccination of badgers (*Meles meles*) against tuberculosis: Comparison of the protection generated by BCG vaccine strains Pasteur and Danish. *Vet. J.*, 2014, **200**(3), 362-367.
- Palphramand K.L., Carter S.P., Woods J.A., Smith G.C., Walker N.J., Delahay R.J. - Uptake of buried baits by badgers: Implications for rabies control in Great Britain and the delivery of an oral TB vaccine. *Wildl. Soc. Bull.*, 2012, **36**(2), 220-225.
- Palphramand K., Delahay R., Robertson A., Gowtage S., Williams G.A., McDonald R.A., Chambers M., Carter S.P. - Field evaluation of candidate baits for oral delivery of BCG vaccine to European badgers, *Meles meles*. *Vaccine*, 2017, **35**(34), 4402-4407.
- Palphramand K.L., Walker N., McDonald R.A., Delahay R.J. - Evaluating seasonal bait delivery to badgers using rhodamine B. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2011, **57**(1), 35-43.
- Payne A. - Rôle de la faune sauvage dans le système multi-hôtes de *M. bovis* et risque de transmission aux bovins. Étude expérimentale en Côte-d'Or. Thèse de 3^{ème} cycle, 2014. Université Lyon 1, Villeurbanne. 366 pages.
- Payne A., Chappa S., Hars J., Dufour B., Gilot-Fromont E. - Wildlife visits to farm facilities assessed by camera traps in a bovine tuberculosis-infected area in France. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2016, **62**(1), 33-42.
- Payne A., Philipon S., Hars J., Dufour B., Gilot-Fromont E. - Wildlife Interactions on Baited Places and Waterholes in a French Area Infected by Bovine Tuberculosis. *Front. Vet. Sci.*, 2017, **3**(January).
- Perrett S., Lesellier S., Rogers F., Williams G.A., Gowtage S., Palmer S., Dalley D., Davé D., Weyer U., Wood E., Salguero F.J., Nunez A., Reed N., Chambers M.A. - Assessment of the safety of

- Bacillus Calmette-Guérin vaccine administered orally to badgers (*Meles meles*). *Vaccine*, 2018, **36**(15), 1990-1995.
- Réveillaud É., Desvaux S., Boschiroli M.L., Hars J., Faure É., Fediaevsky A., Cavalerie L., Chevalier F., Jabert P., Poliak S., Tourette I., Hendrikx P., Richomme C. - Infection of wildlife by *Mycobacterium bovis* in France Assessment through a national surveillance system, *Sylvatub. Front. Vet. Sci.*, 2018, **5**(OCT), 1-16.
- Robertson A., Chambers M.A., Delahay R.J., McDonald R.A., Palphramand K.L., Rogers F., Carter S.P. - Exposure of nontarget wildlife to candidate TB vaccine baits deployed for European badgers. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2015, **61**(2), 263-269.
- Robertson A., Delahay R.J., McDonald R.A., Aylett P., Henderson R., Gowtage S., Chambers M.A., Carter S.P. - Behaviour of European badgers and non-target species towards candidate baits for oral delivery of a tuberculosis vaccine. *Prev. Vet. Med.*, 2016, **135**, 95-101.
- Rossi S., Staubach C., Blome S., Guberti V., Thulke H.H., Vos A., Koenen F., Le Potier M.F. - Controlling of CSFV in European wild boar using oral vaccination: A review. *Front. Microbiol.*, 2015, **6**(1141).
- Rupprecht C.E., Hanlon C.A., Slate D. - Oral vaccination of wildlife against rabies: opportunities and challenges in prevention and control. *Dev. Biol. (Basel)*, 2004, **119**, 173-84.
- 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

Nous remercions les financeurs de cette étude : la DGAI (Fabrice Chevalier, Lisa Cavalerie et Gaëtan Goeuriot), GDS France (David Ngwa Mbot et Isabelle Tourette), GDS 21 (Stéphane Ratay, Pascale Martens et Jean-Luc Chevalier) et l'ONCFS.

Les auteurs remercient Rémi Hyenne du GDS 21, Jean-Michel Vandel, François Léger et Michel Albaret de l'ONCFS ainsi que Sylvia Pardonnet de l'Université Lyon 1 (CNRS-LBBE) pour leur contribution importante au travail de terrain. Nous remercions également Sonya Gowtage de l'APHA pour son aide dans la fabrication des appâts. Enfin, nous remercions Jeannick Gautherot, Georges Balluet et les éleveurs qui nous ont aidés pour la recherche des terriers.