

## LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE BOVINE EN FRANCE : LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE À LA RESCousse DE L'HISTOPATHOLOGIE \*

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



### RÉSUMÉ

La surveillance de la tuberculose bovine (bTB) est en partie fondée sur la détection, lors de l'inspection à l'abattoir, de lésions évocatrices de tuberculose qui sont prélevées et envoyées à un laboratoire agréé pour un diagnostic par bactériologie, histopathologie (méthodes officielles selon la Directive UE 64-432) et par PCR. L'histopathologie est une méthode plus sensible que la bactériologie mais d'une spécificité moindre. Dans une étude récente nous avons démontré que la méthode PCR, employée en France à l'heure actuelle, possède une sensibilité équivalente à l'histopathologie avec une spécificité équivalente à la bactériologie. Nous présentons ici une étude rétrospective portant sur des prélèvements réalisés sur 170 bovins présentant des lésions suspectes de tuberculose et sur lesquels l'histologie est évocatrice de tuberculose alors que la recherche par PCR est négative. Ces analyses ont été réalisées entre 2013 et 2015. Des analyses moléculaires supplémentaires sur ces prélèvements à résultats discordants entre l'histologie et la PCR ont permis de mettre en évidence la présence de bactéries qui seraient responsables de ces lésions : des mycobactéries non tuberculeuses (22 %), des actinomycétales (57 %), telles que *Rhodococcus equi* (53 %) ; 23 % étaient négatives. Aucun de ces échantillons n'a donné de culture positive pour *M. bovis* au bout des trois mois réglementaires. En conclusion, l'utilisation de la PCR en première intention permet de simplifier et d'accélérer le processus du diagnostic de la bTB et de lever rapidement nombre de suspicions générées à la suite de la déclaration de lésions évocatrices de tuberculose à l'abattoir.

**Mots-clés :** tuberculose bovine, histopathologie, PCR, mycobactéries non-tuberculeuses, *Rhodococcus*.

### ABSTRACT

Surveillance of bovine tuberculosis (bTB) is partly based on the detection of lesion during veterinary inspections in the slaughterhouse, which are analyzed by bacteriology, histopathology (official tests, according to UE recommendations 64/432/EEC) and by PCR. Histopathology has a better sensitivity than bacteriology however a lower specificity. In a previous study, we have demonstrated that the current PCR method employed in France possesses similar Se values as histopathology albeit with similar Sp values as bacteriology. We present here a retrospective study on 170 cattle samples (bTB histopathology positive and MTBC negative PCR) between 2013 and 2015. Supplementary molecular analysis allowed highlighting the presence of bacteria which could be responsible for these lesions in histopathology and PCR discordant samples: non tuberculous mycobacteria (22%) or Actinomycetales (57%), such *Rhodococcus equi* (53%); 23% were negative.

.../..

\* Texte de la communication orale présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA, 25 mars 2016

<sup>1</sup> Université Paris-Est, Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de santé animale, Maisons-Alfort cedex, France

.../..

On none of these samples *M. bovis* was isolated at the end of the 3 months of culture. In conclusion, the use of a first line PCR allows to simplify and accelerate the diagnostic process and to reduce the number of bTB suspicions generated due to false-positive bTB-like lesions at the abattoir.

**Keywords:** Bovine tuberculosis, Histopathology, PCR, Non-tuberculous mycobacteria, *Rhodococcus*.




---

## I - INTRODUCTION

---

La tuberculose bovine (bTB), causée par *M. bovis*, est une importante maladie zoonotique ré-émergente en Europe. Bien que la France soit officiellement indemne de bTB depuis 2001, la persistance de la maladie dans l'élevage et son passage, voire son implantation, dans la faune sauvage dans certaines régions sont très inquiétantes. C'est uniquement avec la mise en place de mesures de contrôle plus adaptées à ce nouveau scénario épidémiologique, qui incluraient l'utilisation de protocoles de diagnostic plus performants et plus rapides, afin que les mesures de blocage des élevages à la suite d'une suspicion de bTB puissent être levées dans les meilleurs délais, que l'objectif d'éradication pourrait être atteint [Fediaevsky *et al.*, 2013]. Actuellement, les campagnes de contrôle de la bTB conduites en France sont, en accord avec la directive européenne 64/432, principalement fondées sur le contrôle régulier des bovins par test d'intradermo-tuberculation et par la détection de lésions suspectes lors de l'inspection vétérinaire des carcasses à l'abattoir.

A l'examen *post-mortem*, les lésions évocatrices de tuberculose sont soumises à une recherche bactériologique et à un examen histopathologique afin de confirmer ou non l'infection. La confirmation des lésions suspectes par bactériologie peut prendre jusqu'à trois mois, les mycobactéries du complexe de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) ayant une croissance lente [Gormley *et al.*, 2014]. Pendant cette période, les cheptels suspects sont placés sous arrêté préfectoral de mise sous surveillance et subissent alors de fortes restrictions. Un diagnostic plus rapide est nécessaire pour pallier cet inconvénient de la bactériologie, qui peut avoir des conséquences économiques et commerciales

graves pour les élevages suspects. Au contraire, l'histopathologie est une méthode rapide et sensible mais qui, par contre, manque de spécificité. Une méthode utilisée pour raccourcir ce délai de réponse est la combinaison de l'examen histopathologique de la lésion, suivi, en cas de résultat non négatif, d'une confirmation par PCR. Dans une étude récente sur l'évaluation de la spécificité et de la sensibilité des tests de confirmation, il a été démontré que l'histopathologie était aussi sensible que la PCR mais moins spécifique que la bactériologie et la PCR [Courcoul *et al.*, 2014]. Par conséquent, la combinaison de ces deux tests présente l'avantage d'associer deux méthodes ayant la même sensibilité et de confirmer le résultat du premier, qui est celui qui est reconnu officiellement par la Directive EU 64/432, avec un test présentant une meilleure spécificité.

Ces dernières années, le laboratoire national de référence (LNR) a introduit une méthode de diagnostic moléculaire qui permet l'identification des espèces mycobactériennes. Cette méthode fournit des résultats rapides vis-à-vis de *M. bovis* et également de n'importe quelle autre infection due à des mycobactéries autres.

Un nombre croissant de prélèvements de bovins ont été analysés par le LNR dans le cadre de résultats non concordants entre l'histopathologie et la PCR (NS DGAI/SDSPA/N2013-8202). Dans cette étude, nous avons pu le plus souvent mettre en évidence les agents ayant conduit au manque de spécificité de l'histopathologie et nous avons démontré que la méthode de diagnostic moléculaire employée en France à l'heure actuelle permet d'écarter un nombre important de suspicions de bTB injustifiées.

## II - MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1. COLLECTE D'ÉCHANTILLONS

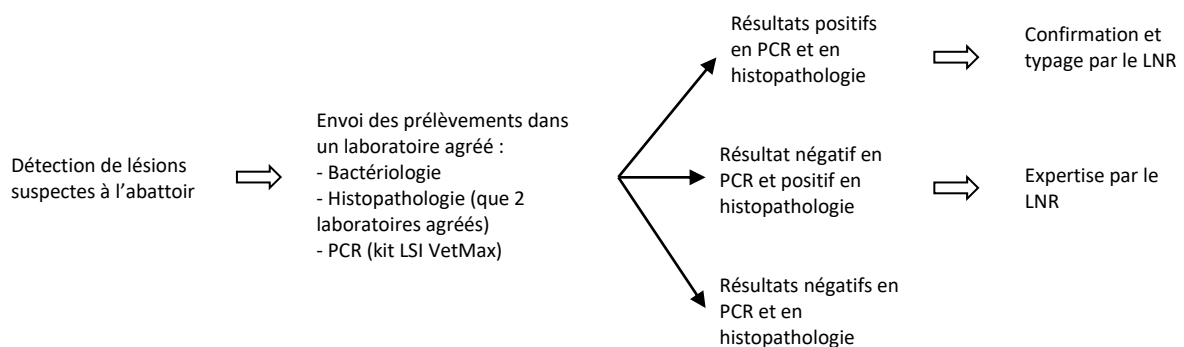
Les prélèvements inclus dans cette étude ont préalablement été analysés par les laboratoires départementaux appartenant au réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic de la tuberculose bovine entre 2013 et 2015, à la suite de la détection de lésions suspectes de tuberculose lors de l'inspection à l'abattoir (figure 1). L'analyse histopathologique de chaque lésion (coloration à l'hématoxyline-éosine et coloration de Ziehl-Neelsen) a été réalisée dans deux laboratoires agréés (Laboratoire départemental d'analyse des

Côtes-d'Armor [LDA22] et Laboratoire d'anatomie pathologique de l'École nationale vétérinaire de Lyon [ENVL]). L'ADN de chaque échantillon a été extrait par le laboratoire départemental et testé avec le kit LSI VetMAX™ *Mycobacterium tuberculosis* Complex Real-Time PCR (Thermo Fisher scientific, France). Les prélèvements ont été ensuite analysés par le LNR car :

1. ils présentaient des lésions évocatrices de tuberculose à l'histopathologie, et
2. ils ont donné un résultat négatif pour la PCR ciblant les MTBC.

Figure 1

#### Schéma diagnostique de la tuberculose bovine à la suite de la découverte de lésions à l'abattoir



### 2. TESTS DE CONFIRMATION

Dans le cadre de l'expertise réalisée au LNR, les laboratoires départementaux envoient le tissu original, le broyat décontaminé, et l'ADN extrait chez eux. Une première analyse est réalisée sur cet ADN par PCR temps réel ciblant des séquences d'insertion IS6110 et IS1081 pour la détection du MTBC, l'IS1245 pour la détection des mycobactéries du complexe *M. avium* (MAC), et le gène codant pour la protéine de choc thermique de 65 kDa (hsp65) pour la détection de *Mycobacterium* sp (tableau 1). Les PCR en temps réel sont réalisées dans un volume final de 25 µl avec le Master Mix TaqMan® Fast Universal PCR (Roche Applied Science, Germany) à une concentration finale de 1X, 300 nM d'amorces et 250 nM de sonde. Le cycle de PCR comprend 2 min

à 50°C et 20 s à 95°C, suivi de 50 cycles composés de deux étapes, une de 3 s à 95°C et l'autre de 30 s à 60°C. Si nécessaire, une seconde analyse est réalisée avec une extraction du prélèvement original et du broyat décontaminé avec le kit high pure PCR template preparation kit (Roche).

La culture bactérienne était réalisée selon le protocole établi par le LNR (NF U 47-104) pour l'isolement de *M. bovis*.

L'identification des mycobactéries non tuberculeuses était réalisée par le séquençage du gène de la protéine de choc thermique de 65 kDa (hsp65) [Telenti *et al.*, 1993] ou de la sous-unité β de l'ARN polymérase bactérienne (rpoB) [Adekambi *et al.*, 2003]. Les séquences obtenues ont été comparées aux bases de données GenBank/EMBL/DDBJ avec le programme BLAST.

**Tableau 1**  
**Amorces et sondes utilisées pour la PCR temps réel**

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

### III - RÉSULTATS

Cette analyse rétrospective a porté sur tous les prélèvements réalisés sur des bovins présentant des lésions évocatrices de tuberculose et envoyés au LNR dans un contexte de discordance de résultat entre l'histopathologie (non négative) et la PCR (positive). Entre 2013 et 2015, le LNR a analysé des échantillons de 170 bovins appartenant à 163

cheptels (tableau 2). La majorité des échantillons (88 %) étaient des nœuds lymphatiques drainants (55 rétro-pharyngiens, 36 médiastinaux et 57 trachéo-bronchiques) et les échantillons restants étaient d'autres nœuds lymphatiques (10 %) et des organes (foie ou poumon) (2 %).

**Tableau 2**  
**Nombre de cas rapportés et diagnostic final obtenu au LNR**

	Total	Diagnostic final		
		Mycobactéries non tuberculeuses	Actinomycétales	Négatif
Nombre de bovins avec une histologie positive et une PCR négative	170*	36	99	40
Nombre de cheptels	163	36	92	40
NL rétro-pharyngien	55	12	39	8
NL trachéo-bronchique	57	11	31	16
NL médiastinal	37	5	24	8
Autres NL	17	7	5	5
Organes	4	1	0	3

\*Cinq échantillons étaient co-infectés par deux bactéries

Les profils histopathologiques de ces bovins étaient quasiment identiques, c'est-à-dire des granulomes encapsulés avec des zones de nécrose et la présence de cellules géantes de Langhans. Pour quelques échantillons, d'autres types de cellules étaient également observés tels que des lymphocytes ou des macrophages. Une minéralisation partielle ou complète était également constatée dans certains cas. Pour quelques échantillons, des bacilles acido-alcool-résistants ont pu être identifiés par coloration de Ziehl-Neelsen.

Seulement 15 cas ont donné un résultat positif en bactériologie. L'identification de la bactérie a été réalisée par séquençage et a permis de déterminer l'espèce : huit MAC, quatre mycobactéries non tuberculeuses (NTM) (*M. pyrenivorans*, *M. kansasii*, *M. aichiense* et *M. bourgelatii*) et trois *Rhodococcus equi*.

La méthode de diagnostic moléculaire utilisée par le LNR a permis de constater la présence sur les

170 cas envoyés au LNR entre 2013 et 2015, de NTM dans 21 % des prélèvements, d'Actinomycétales dans 56 %, alors que 23 % étaient négatifs (tableau 2). Dans cinq cas, nous avons mis en évidence une co-infection, entre deux NTM (*M. avium avium* et *M. nonchromogenicum*) ou entre une NTM (*M. aichiense* ou MAC) et une Actinomycétale (*Rhodococcus equi*). L'identification de l'espèce bactérienne par séquençage a mis en évidence que 94 % des Actinomycétales étaient *R. equi*. Parmi les NTM, les MAC représentent 50 % des cas, alors que l'autre moitié correspondait à diverses mycobactéries (tableau 3). Ces NTM ou Actinomycétales ont été identifiées dans des prélèvements variés, le plus fréquemment dans les nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens (38 %), suivis par les nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques (31 %), nœuds lymphatiques médiastinaux (21 %), d'autres nœuds lymphatiques (9 %) et les organes (0,7 %). Plus de 60 % des nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens et médiastinaux étaient infectés par *R. equi*.

**Tableau 3**  
**Bactéries identifiées au séquençage**

Groupe	Espèces	N
Mycobactéries non tuberculeuses	<i>M. avium avium</i>	12
	<i>M. avium hominissuis</i>	3
	<i>M. avium paratuberculosis</i>	4
	<i>M. aichiense</i>	1
	<i>M. bourgelatii</i>	1
	<i>M. gordonae</i>	1
	<i>M. intracellulare</i>	1
	<i>M. kansasii</i>	2
	<i>M. nonchromogenicum</i>	2
	<i>M. pyrenivorans</i>	1
	<i>M. shimoidei</i>	1
	<i>Mycobacterium sp</i>	7
	Actinomycétales	<i>Gordonia sp</i>
<i>Nocardia sp</i>		4
<i>Rhodococcus erythropolis</i>		2
<i>Rhodococcus equi</i>		92
<b>Total</b>		<b>135*</b>

\*Cinq échantillons étaient co-infectés.

---

## IV - DISCUSSION

---

Nous avons étudié les cas de suspicion de bTB constatés en abattoir et présentant des lésions évocatrices à l'histopathologie associées à une PCR négative pour le MTBC et nous nous sommes intéressés particulièrement à l'identification de l'espèce bactérienne responsable de ces lésions évocatrices. Le nombre de cas de ce type a augmenté entre 2013 et 2014, du fait d'une intensification des contrôles à l'abattoir et d'une campagne de sensibilisation du personnel d'inspection. Aucun des cas étudiés n'était une vraie infection de bTB causée par *M. bovis*, mais d'autres bactéries telles que des NTM ou des Actinomycétales ont été identifiées. Une étude réalisée dans le nord de l'Irlande a tenté d'identifier les mycobactéries dans des nœuds lymphatiques de bovins appartenant à des cheptels ayant déjà eu une infection de bTB. Les espèces bactériennes identifiées étaient quasiment les mêmes que celles de notre étude mais avec des proportions différentes : une majorité de *M. nonchromogenicum*, quelques MAC, quelques *M. kansasii* et seulement un *R. equi* [Hughes *et al.*, 2005]. Les mycobactéries non tuberculeuses et certaines autres actinomycétales telles que *R. equi* sont aussi capables d'infecter les nœuds lymphatiques des animaux domestiques et sauvages (les porcs et les sangliers (*Sus scrofa*), les chevreuils (*Capreolus capreolus*) ou les cerfs (*Cervus elaphus*) et peuvent entraîner des interférences dans le diagnostic de bTB [Garcia-Jimenez *et al.*, 2015 ; Lara *et al.*, 2011 ; Witkowski *et al.*, 2015]. En effet, les lésions tuberculeuses sont fréquemment identifiées dans les mêmes localisations, les organes le plus souvent infectés étant les nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens (29,4 %), les nœuds lymphatiques médiastinaux (28,2 %) et les nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques (18 %) [Domingo *et al.*, 2014].

*Rhodococcus equi* et les mycobactéries non tuberculeuses (en particulier les MAC) sont des agents pathogènes intracellulaires facultatifs qui survivent à l'intérieur des macrophages et induisent des inflammations granulomateuses [Biet et Boschioli, 2014 ; Dvorska *et al.*, 1999].

*Rhodococcus equi* (anciennement *Corynebacterium equi*) est un coccobacille commun trouvé dans le sol qui peut être pathogène pour les animaux domestiques tels que les chevaux, les porcs ou les bovins [Barton et Hughes, 1984 ; Vazquez-Boland *et al.*, 2013]. Même si la pathogénicité est

atténuée chez les bovins, il peut occasionnellement causer des granulomes dans les nœuds lymphatiques qui peuvent être détectés lors de l'examen post-mortem à l'abattoir [Flynn *et al.*, 2001] et confondus avec des lésions bTB. Cette bactérie a la capacité de modifier la vacuole phagocytaire des macrophages et induit une réaction inflammatoire similaire à la bTB, du fait des ressemblances dans la composition de sa paroi cellulaire et de sa structure antigénique avec les agents de la bTB [Varello *et al.*, 2008 ; Vazquez-Boland *et al.*, 2013]. Les granulomes causés par *R. equi* sont plus fréquemment observés dans les nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens, bronchiques et médiastinaux [Vazquez-Boland *et al.*, 2013] et sont vraiment difficiles à distinguer de ceux causés par *M. bovis*, même si la présence d'une abondante infiltration de neutrophiles et/ou de larges plages de macrophages pourrait probablement permettre la distinction [Flynn *et al.*, 2001]. Les interférences causées par *R. equi* dans la surveillance de la bTB étaient déjà connues il y a 35 ans [McKenzie et Donald, 1979].

Les mycobactéries non tuberculeuses et les MAC sont ubiquitaires dans l'environnement et particulièrement dans les sols humides, l'eau ou les plantes [Garcia-Jimenez *et al.*, 2015 ; Lara *et al.*, 2011]. Les infections animales par *R. equi* se produisent probablement à la suite d'une contamination orale, causée par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminée par ces organismes environnementaux [Vazquez-Boland *et al.*, 2013].

De nombreuses mycobactéries environnementales peuvent interférer avec les programmes de surveillance de la bTB, notamment lors de l'inspection *post-mortem* à l'abattoir [Biet et Boschioli, 2014]. La majorité des échantillons dans notre étude présentait un profil histopathologique avec une encapsulation du granulome et la présence de cellules géantes de type Langhans, parfois en association avec d'autres cellules (lymphocytes, neutrophiles, cellules épithélioïdes ou cellules géantes plurinucléées). La présence de macrophages épithélioïdes ou de cellules de Langhans n'est pas pathognomonique, étant donné que ces cellules sont également observées dans d'autres types de granulomes [WatreLOT-Virieux *et al.*, 2006], notamment les granulomes tuberculeux [Menin *et al.*, 2013]. Les résultats histopathologiques de nos cas étaient quasiment

les mêmes pour les lésions causées par des mycobactéries non tuberculeuses ou des Actinomycétales, montrant bien le manque de spécificité de cet examen. Dans une étude précédente, la sensibilité et la spécificité des tests de confirmation (bactériologie, histopathologie et PCR) ont été évaluées selon les conditions de terrain français [Courcoul *et al.*, 2014]. L'histopathologie a montré une sensibilité équivalente à la PCR mais une spécificité moindre par rapport à la bactériologie et la PCR, ce qui suggère que ce test ne peut être utilisé seul pour confirmer une infection. Nos résultats confirment le manque de spécificité de l'histopathologie. De plus, la PCR a prouvé ici son utilité et a clairement amélioré le diagnostic en écartant les suspicions de bTB et en incriminant d'autres bactéries. Les tests moléculaires utilisés au LNR ont montré une

excellente valeur prédictive négative et auraient permis de réduire rapidement le nombre de suspicions inutiles résultant des déclarations de lésions évocatrices de tuberculose faussement positives à l'abattoir et en histologie. En conclusion, et en particulier pour l'analyse des lésions découvertes à l'abattoir, la PCR est un outil de très grand intérêt qui mérite sa place comme test officiel reconnu par la Commission Européenne afin d'accélérer le processus de diagnostic, voire pour remplacer l'histopathologie et ainsi améliorer la surveillance de la bTB en Europe. En règle générale, l'utilisation des outils moléculaires très sensibles et spécifiques pourrait donc améliorer les programmes d'éradication et les rendre plus acceptables pour les acteurs de terrain dans le futur.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Adekambi T., Colson P., Drancourt M. - rpoB-based identification of nonpigmented and late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 5699-5708.
- Barton M.D., Hughes K.L. - Ecology of *Rhodococcus equi*. *Vet. Microbiol.*, 1984, **9**, 65-76.
- Biet F., Boschioli M.L. - Non-tuberculous mycobacterial infections of veterinary relevance. *Res. Vet. Sci.*, 2014, **97** Suppl, S69-77.
- Courcoul A., Moyen J.L., Brugere L., Faye S., Henault S., Gares H., Boschioli M.L. - Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis. *PLoS one*, 2014, **9**, e90334.
- Domingo M., Vidal E., Marco A. - Pathology of bovine tuberculosis. *Res. Vet. Sci.*, 2014, **97** Suppl, S20-29.
- Dvorska L., Parmova I., Lavickova M., Bartl J., Vrbas V., Pavlik I. - Isolation of *Rhodococcus equi* and atypical mycobacteria from lymph nodes of pigs and cattle in herds with the occurrence of tuberculoid gross changes in the Czech republic over the period of 1996-1998. *Vet. Med. - Czech*, 1999, **44**, 321-330.
- Fediaevsky A., Courcoul A., Boschioli M.L., Reveillaud E. - Bovine tuberculosis in France: positive signs but a situation that is still complex in some areas. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 2013, **59**, 4-10.
- Flynn O., Quigley F., Costello E., O'Grady D., Gogarty A., Mc Guirk J., Takai S. - Virulence-associated protein characterisation of *Rhodococcus equi* isolated from bovine lymph nodes. *Vet. Microbiol.*, 2001, **78**, 221-228.
- Garcia-Jimenez W.L., Benitez-Medina J.M., Martinez R., Carranza J., Cerrato R., Garcia-Sanchez A., Risco D., Moreno J.C., Sequeda M., Gomez L., Fernandez-Llario P., Hermoso-de-Mendoza J. - Non-tuberculous mycobacteria in wild boar (*Sus scrofa*) from Southern Spain: epidemiological, clinical and diagnostic concerns. *Transbound Emerg. Dis.*, 2015, **62**, 72-80.
- Gormley E., Corner L.A., Costello E., Rodriguez-Campos S. - Bacteriological diagnosis and molecular strain typing of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae*. *Res. Vet. Sci.*, 2014, **97** Suppl, S30-43.
- Hughes M.S., Ball N.W., McCarroll J., Erskine M., Taylor M.J., Pollock J.M., Skuce R.A., Neill S.D. - Molecular analyses of mycobacteria other than the *M. tuberculosis* complex isolated from

- Northern Ireland cattle. *Vet. Microbiol.*, 2005, **108**, 101-112.
- Lara G.H., Ribeiro M.G., Leite C.Q., Paes A.C., Guazzelli A., da Silva A.V., Santos A.C., Listoni F.J. - Occurrence of *Mycobacterium* spp. and other pathogens in lymph nodes of slaughtered swine and wild boars (*Sus scrofa*). *Res. Vet. Sci.*, 2011, **90**, 185-188.
- McKenzie R.A., Donald B.A. - Lymphadenitis in cattle associated with *Corynebacterium equi*: a problem in bovine tuberculosis diagnosis. *J. Comp. Pathol.*, 1979, **89**, 31-38.
- Menin A., Fleith R., Reck C., Marlow M., Fernandes P., Pilati C., Bafica A. - Asymptomatic cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis* present exacerbated tissue pathology and bacterial dissemination. *PLoS one*, 2013, **8**, e53884.
- Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Bottger E.C., Bodmer T. - Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, **31**, 175-178.
- Varello K., Pezzolato M., Mascarino D., Ingravalle F., Caramelli M., Bozzetta E. - Comparison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2008, **20**, 164-169.
- Vazquez-Boland J.A., Giguere S., Hapeshi A., MacArthur I., Anastasi E., Valero-Rello A. - *Rhodococcus equi*: the many facets of a pathogenic actinomycete. *Vet. Microbiol.*, 2013, **167**, 9-33.
- WatreLOT-Virieux D., Drevon-Gaillot E., Toussaint Y., Belli P. - Comparison of three diagnostic detection methods for tuberculosis in French cattle. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, 2006, **53**, 321-325.
- Witkowski L., Rzewuska M., Cisek A.A., Chrobak-Chmiel D., Kizerwetter-Swida M., Czopowicz M., Welz M., Kita J. - Prevalence and genetic diversity of *Rhodococcus equi* in wild boars (*Sus scrofa*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) in Poland. *BMC Microbiol.*, 2015, **15**, 110.



## Remerciements

Nous remercions vivement les laboratoires départementaux agréés pour le diagnostic de la tuberculose bovine, les DDecPP, les coordonnateurs régionaux Tuberculose ainsi que les Cirev pour leur précieuse collaboration dans cette étude.