



**HAL**  
open science

# TUBERCULOSE BOVINE DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES : EPIDEMIOLOGIE ET MODELISATION

Gina Zanella

► **To cite this version:**

Gina Zanella. TUBERCULOSE BOVINE DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES : EPIDEMIOLOGIE ET MODELISATION. Autre [q-bio.OT]. Université Paris Sud - Paris XI, 2007. Français. NNT: . tel-00239198

**HAL Id: tel-00239198**

**<https://theses.hal.science/tel-00239198>**

Submitted on 5 Feb 2008

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE PARIS XI  
FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD**

**2007**

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

**THESE**

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI**

Discipline : santé publique

Spécialité : épidémiologie

présentée et soutenue publiquement

par

**Gina ZANELLA**

le 19 décembre 2007

<p><b>TUBERCULOSE BOVINE DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES : EPIDEMIOLOGIE ET MODELISATION</b></p>
--

Directeur de thèse : M. Avner BAR-HEN

**JURY**

M. Avner BAR-HEN	Directeur de thèse
M. Jean-Jacques BENET	Examineur
M. Benoît DURAND	Examineur
Mme Nadia HADDAD	Rapporteur
M. Denis HEMON	Président
M. Philippe SABATIER	Rapporteur

## REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont tout d'abord à Avner Bar-Hen qui a bien voulu en 2004 accepter de diriger cette thèse d'épidémiologie vétérinaire. Son soutien et son aide ont été très importants pour son bon déroulement.

Benoît Durand, épidémiologiste à l'unité d'épidémiologie de l'AFSSA Alfort, a encadré mon travail de recherche. Sa connaissance à la fois de l'épidémiologie, de la modélisation et de la programmation informatique ont facilité énormément l'aboutissement de mon travail de thèse. Je lui suis profondément reconnaissante de tout le temps qu'il m'a consacré et de sa gentillesse.

François Moutou, responsable de l'unité épidémiologie de l'AFSSA Alfort, m'a accordé toute sa confiance en me proposant ce sujet lorsque je l'ai contacté pour la première fois. Ses connaissances sur la faune sauvage ont été une aide précieuse au moment d'aborder le sujet. Grâce à son soutien inconditionnel j'ai pu aussi surmonter les moments de difficultés personnelles que j'ai dû traverser au cours de la thèse. Merci du fond du cœur pour m'avoir encouragée à continuer.

Jean Hars a été à l'origine de la mise en place du projet de recherche sur la tuberculose bovine dans la forêt de Brotonne. Sans lui, ce sujet de thèse n'aurait pas eu lieu. Je lui suis très reconnaissante.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Maria Laura Boschioli et à l'équipe de mycobactéries de l'unité de zoonoses bactériennes de l'AFSSA sans qui l'analyse des résultats de bactériologie auraient été impossibles.

Je tiens également à remercier aux vétérinaires chargées de l'inspection et des prélèvements sur le terrain : Marc Fermé, Aurore Duvauchelle et Stéphanie Maeder ainsi qu'aux services vétérinaires de l'Eure et Seine Maritime ; les laboratoires vétérinaires départementaux de Seine Maritime, Savoie et Bas-Rhin ; les agents de l'Office national des forêts et la Fédération départementale des chasseurs de Seine Maritime pour leur collaboration.

J'exprime ma profonde gratitude à la direction générale de l'AFSSA, et tout particulièrement à la Direction scientifique pour m'avoir accordé toute leur confiance en finançant ma bourse de thèse.

Les conseils des membres de mon jury de thèse ont été d'une grande aide pour bien acheminer mon travail. Je leur suis énormément reconnaissante.

Denis Hémon a bien voulu présider le jury de cette thèse, je l'en remercie profondément. Je remercie à travers lui, l'école doctorale de Santé publique pour m'avoir permis de développer ce travail.

Je remercie Nadia Haddad et Philippe Sabatier pour avoir pris en charge la difficile tâche d'être rapporteurs de ce travail. Mes remerciements vont aussi à Jean-Jacques Bénét qui a accepté d'en être examinateur.

*Sueña con aquello que tú quieras.  
Anda para donde quieras ir.  
Sé lo que tú quieras ser, porque posees apenas  
una vida y en ella sólo tenemos un chance  
de hacer aquello que queremos.*

Clarice Lispector

A Rodrigo y a Chiara, mis dos amores

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>10</b>
<b>1. LA TUBERCULOSE A <i>MYCOBACTERIUM BOVIS</i> DANS LA FAUNE SAUVAGE.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. Généralités .....</b>	<b>14</b>
1.1.1. Taxonomie.....	15
1.1.2. Présence de la tuberculose à <i>M. bovis</i> dans la faune sauvage .....	16
1.1.3. Transmission .....	22
1.1.3.1. Directe .....	22
1.1.3.2. Indirecte.....	23
1.1.4. Diagnostic.....	25
1.1.4.1. Ante-mortem .....	25
1.1.4.2. Post-mortem .....	26
1.1.5. Risque de transmission de la tuberculose à <i>M. bovis</i> de la faune sauvage à la faune domestique et à l'homme .....	28
1.1.6. Gestion de la tuberculose à <i>M. bovis</i> dans la faune sauvage.....	32
1.1.6.1. Gestion de la densité de population.....	33
1.1.6.2. Vaccination.....	35
1.1.6.2.1. Types de vaccins .....	35
1.1.6.2.2. Administration du vaccin .....	36
1.1.6.2.3. Essais conduits et résultats obtenus.....	36
<b>1.2. Informations écologiques et épidémiologiques sur le cerf élaphe et le sanglier ...</b>	<b>41</b>
1.2.1. Ecologie du cerf élaphe .....	44
1.2.2. Infection du cerf élaphe par <i>M.bovis</i> .....	45
1.2.2.1. Clinique et pathogénie.....	45
1.2.2.2. Transmission .....	47
1.2.3. Ecologie du sanglier .....	48
1.2.4. Infection du sanglier ou du cochon marron par <i>M.bovis</i> .....	50
1.2.4.1. Clinique et pathogénie.....	50
1.2.4.2. Transmission .....	50
1.2.5. Pourcentage de prévalence de l'infection chez les deux espèces.....	51
1.2.5.1. Estimation du pourcentage de prévalence.....	51
1.2.5.2. Pourcentage de prévalence chez les cerfs .....	52
1.2.5.3. Pourcentage de prévalence chez les sangliers .....	56
1.2.5.4. Conclusions .....	59
<b>1.3. Modélisation de la tuberculose à <i>M. bovis</i>.....</b>	<b>62</b>
1.3.1. Généralités.....	62
1.3.2. Nomenclature utilisée dans les modèles épidémiologiques .....	64
1.3.3. Modèles de tuberculose à <i>M. bovis</i> .....	67
1.3.3.1. Blaireaux .....	68
1.3.3.2. Possums .....	73
1.3.3.3. Cervidés.....	78
1.3.4. Conclusions .....	81

<b>2. EVOLUTION DU PREMIER FOYER CONNU DE TUBERCULOSE A <i>M. BOVIS</i> DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES EN FRANCE.....</b>	<b>88</b>
<b>2.1. Introduction .....</b>	<b>88</b>
<b>2.2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>90</b>
2.2.1. Zone d'étude.....	90
2.2.2. Pourcentages de prévalence de l'infection à <i>M. bovis</i> et de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose .....	92
2.2.3. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen d'autopsie utilisé en tant qu'outil diagnostique.....	93
2.2.4. Etude comparative des lésions macroscopiques chez les cerfs et les sangliers ...	94
2.2.5. Culture, méthodes d'identification et typage moléculaire .....	95
<b>2.3. Résultats .....</b>	<b>96</b>
2.3.1. Pourcentages de prévalence de l'infection à <i>M. bovis</i> et des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose .....	96
2.3.1.1. Cerfs élaphe .....	96
2.3.1.2. Sangliers .....	97
2.3.1.3. Autres espèces .....	99
2.3.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen d'autopsie utilisé en tant qu'outil diagnostique.....	99
2.3.3. Etude comparative des lésions macroscopiques chez les cerfs et les sangliers .	101
2.3.3.1. Cerfs élaphe .....	101
2.3.3.2. Sangliers.....	103
2.3.3.3. Comparaison du score entre les cerfs élaphe et les sangliers .....	105
2.3.4. Culture, méthodes d'identification et typage moléculaire .....	105
<b>2.4. Discussion.....</b>	<b>106</b>
<b>3. MODELE DE TRANSMISSION DE LA TUBERCULOSE DANS LES POPULATIONS DE CERFS ELAPHES ET DE SANGLIERS DES FORETS DE BROTONNE ET DE MAUNY .....</b>	<b>116</b>
<b>3.1. Introduction .....</b>	<b>116</b>
<b>3.2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>117</b>
3.2.1. Modèle.....	117
3.2.1.1. Hypothèses biologiques.....	117
3.2.1.2. Variables d'état .....	119
3.2.1.3. Description du modèle .....	120
3.2.2. Méthodes .....	123
3.2.2.1. Paramètres .....	123
3.2.2.2. Exploitation .....	129
<b>3.3. Résultats .....</b>	<b>131</b>
3.3.1. Paramètres de population à l'équilibre .....	131
3.3.2. Paramètres de l'infection .....	131
3.3.3. Prédications .....	134

<b>3.4. Discussion</b> .....	<b>136</b>
<b>4. DISCUSSION GENERALE</b> .....	<b>142</b>
<b>5. BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>148</b>
<b>6. ANNEXES</b> .....	<b>165</b>
<b>6.1. Articles</b> .....	<b>165</b>
6.1.1. Article 1 (sous presse) .....	165
6.1.2. Article 2 (sous presse) .....	180
<b>6.2. Programme informatique</b> .....	<b>189</b>

## INDEX DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Tableau I. Liste non exhaustive des espèces de mammifères sauvages chez lesquelles <i>Mycobacterium bovis</i> a été isolé .....	19
Tableau II. Pourcentage de prévalence de la tuberculose à <i>M. bovis</i> dans les populations sauvages de cerfs élaphe.....	55
Tableau III. Pourcentage de prévalence de la tuberculose à <i>M. bovis</i> dans les populations sauvages de cochons marrons et de sanglier.....	57
Tableau IV. Comparaison des différents modèles de tuberculose bovine.....	84
Tableau V. Score de sévérité de lésions évocatrices de tuberculose.....	94
Table VI. Pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques et prévalence de l'infection chez les cerfs élaphe par année d'enquête, classe d'âge et sexe.....	98
Tableau VII. Animaux chassés, échantillonnés et positifs à <i>M. bovis</i> .....	99
Tableau VIII. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de la présence de lésions macroscopiques utilisant la culture en tant que test de référence lors de l'enquête de 2001/2002 chez les cerfs élaphe par classe d'âge.....	100
Tableau IX. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de la présence de lésions macroscopiques utilisant la culture en tant que test de référence lors de l'enquête de 2005/2006 chez les cerfs élaphe par classe d'âge.....	100
Tableau X. Nombre de cerfs élaphe et de sangliers par score de lésions selon leur statut d'infection vis à vis de <i>M. bovis</i> .....	102
Table XI. Nombre de cerfs élaphe et de sangliers ayant des lésions évoquant la tuberculose dans les nœuds lymphatiques listés selon leur statut d'infection vis à vis de <i>M. bovis</i> par isolement .....	103
Tableau XII. Concordance entre la présence de lésions macroscopiques et la culture de <i>M. bovis</i> par type de nœud lymphatique chez les cerfs élaphe et les sangliers.....	104
Tableau XIII. Profil MIRU-VNTR de souches bovines de <i>M. bovis</i> (spoligotype SB0134) de Normandie. ....	105
Tableau XIV. Valeurs de taux de natalité et de fécondité optimale signalés dans la littérature pour les cerfs élaphe et les sangliers .....	123
Tableau XV. Tableaux de chasse des cerfs élaphe et des sangliers entre 1994 et 2007 dans les forêts de Brotonne et de Mauny.....	124
Tableau XVI. Pourcentage de prévalence de l'infection à <i>M. bovis</i> chez les cerfs élaphe et les sangliers lors des trois enquêtes épidémiologiques dans les forêts de Brotonne et de Mauny.....	125
Tableau XVII. Paramètres démographiques estimés pour les cerfs élaphe et les sangliers .....	131

Tableau XVIII. Paramètres de transmission estimés selon l'année d'introduction de l'infection et la valeur du paramètre de réduction de la transmission par les cadavres $\varphi_{min}$ induite par les mesures de contrôle.....	132
Tableau XIX. Valeurs estimées des paramètres de transmission pour une introduction de <i>M. bovis</i> dans la population de cerfs en 1995 et pour une efficacité des mesures de ramassage des cadavres correspondant à une réduction à 10% de la transmission ( $\varphi_{min}=0,1$ ).....	134
Tableau XX. Valeurs prédites des tailles de populations en 2025 pour les cerfs élaphe les sangliers, et nombres d'animaux infectés selon neuf scénarios prospectifs.....	135
Tableau XXI. Valeurs prédites de la prévalence de l'infection à <i>M. bovis</i> à l'équilibre chez les cerfs élaphe et les sangliers selon les neuf scénarios prospectifs.....	136
Figure 1. Evolution des tableaux de chasse nationaux du cerf élaphe.....	42
Figure 2. Evolution des tableaux de chasse nationaux du chevreuil.....	43
Figure 3. Evolution des tableaux de chasse nationaux du sanglier.....	43
Figure 4. Situation géographique des forêts de Brotonne et Mauny.....	91
Figure 5. Pourcentages de prévalence observé et prédit de l'infection à <i>M. bovis</i> chez les cerfs élaphe et les sangliers selon l'année d'introduction (1985, 1990, 1995) et la valeur du paramètre de réduction de la transmission par les cadavres induite par la mise en œuvre de mesures de contrôle ( $\varphi_{min} = 0,01$ ou $0,1$ ).....	133

## **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La tuberculose à *Mycobacterium bovis* (tuberculose bovine) est une maladie contagieuse qui touche principalement les bovins mais qui peut atteindre également d'autres mammifères domestiques ou sauvages et même l'homme. Elle a été signalée dans le monde entier suivant l'implantation et le développement de l'élevage bovin. Une diminution importante de son incidence s'est produite dans les élevages des pays où des mesures de dépistage et d'abattage ainsi que des mesures préventives ont été appliquées. Des programmes d'éradication sont en cours ou ont pratiquement abouti dans plusieurs pays d'Europe ainsi qu'aux Etats-Unis d'Amérique, Canada, Japon, et Nouvelle-Zélande (Thoen *et al.*, 2006). Certains pays, dont l'Australie, le Danemark, la Suède, la Norvège et la Finlande sont considérés indemnes de tuberculose bovine.

Cependant, dans certains pays, l'échec de l'éradication de la tuberculose bovine, malgré l'implémentation de mesures de contrôle, a été attribué à la présence de la maladie dans la faune sauvage. En effet, dans ces pays, la tuberculose bovine est apparue secondairement chez des espèces sauvages dont certaines sont devenues réservoirs de *M. bovis* probablement au contact des bovins. Les exemples les plus marquants sont ceux du blaireau (*Meles meles*) dans les îles britanniques, le possum (*Trichosurus vulpecula*) en Nouvelle-Zélande et le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) dans le Michigan, Etats-Unis d'Amérique. Dans ce contexte, la tuberculose bovine peut donc être considérée comme une maladie ré-émergente dont les conséquences sanitaires et économiques peuvent être assez importantes. Le risque vis à vis de la santé publique n'est pas non plus négligeable, les personnes manipulant des carcasses ou consommant des venaisons mal cuites pouvant être exposées à *M. bovis*.

La collecte sur de longues périodes d'informations écologiques et épidémiologiques sur l'infection à *M. bovis* chez les blaireaux en Angleterre et le possum en Nouvelle-Zélande ont permis de développer des modèles mathématiques allant du plus simple au plus complexe. Ces modèles ont permis d'avoir un aperçu sur le comportement de la maladie dans ces populations et sur l'impact des différentes mesures de contrôle, non seulement sur la maladie mais aussi sur la dynamique de population de ces espèces.

En France, la tuberculose bovine est une maladie réputée contagieuse, réglementée par le Ministère de l'Agriculture. Depuis plus de quarante ans, une prophylaxie collective est organisée par les services vétérinaires sur tout le territoire. Grâce au dépistage systématique par tuberculination de tous les bovins suivi d'un abattage des animaux infectés et grâce à la recherche de lésions tuberculeuses en abattoir et aux mesures de prévention mises en œuvre dans les élevages indemnes, la tuberculose bovine est en voie d'éradication. Le pourcentage de prévalence cheptel est passé de plus de 10 % dans les années 1950 à moins de 0,03 % en 2005. La France a été déclarée officiellement indemne de tuberculose bovine le 27/12/2000, conformément aux dispositions de la directive 64/432/CEE (ce statut correspondant à une prévalence inférieure à 0,1%). Aucun foyer de tuberculose n'avait été décrit avant 2001 dans la faune sauvage. Au début de cette année, trois cerfs élaphe (*Cervus elaphus*) tués à la chasse en forêt de Brotonne (Normandie), présentaient des lésions évoquant la tuberculose bovine. La suspicion de tuberculose a été confirmée par le laboratoire national de référence de l'AFSSA, Maisons-Alfort. Une enquête épidémiologique menée en 2001/2002 a permis d'établir que la maladie était présente à des niveaux élevés non seulement chez les cerfs élaphe mais aussi chez les sangliers. Il s'agissait du premier foyer de tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. Des mesures de contrôle ont été instaurées à la fin de 2002, et au cours des années suivantes, des données de la surveillance passive portant sur les animaux chassés ou trouvés morts a confirmé la circulation de *M. bovis* chez les cerfs élaphe et les sangliers. Deux autres enquêtes ont été réalisées en 2005/2006 et en 2006/2007.

Considérant le risque de contamination que ce foyer pose pour les animaux domestiques élevés dans les alentours de la forêt et les précédents à l'étranger d'installation de réservoirs sauvages de la maladie, les objectifs de cette thèse étaient de réaliser une analyse détaillée de la situation épidémiologique ainsi que d'étudier les meilleures stratégies de contrôle. Nous avons donc effectué une analyse épidémiologique des données des deux premières enquêtes afin d'obtenir un maximum d'informations sur la situation de la maladie chez les cerfs et les sangliers dans la forêt de Brotonne. Les conclusions tirées ont reposé également sur des travaux effectués chez ces mêmes espèces dans d'autres pays.

Pour étudier les stratégies de contrôle nous avons effectué la même démarche que les équipes qui ont travaillé sur ce sujet dans des populations d'animaux sauvages, avec le développement d'un modèle mathématique pour simuler la dynamique de l'infection dans les espèces impliquées. Avec un modèle déterministe simple nous avons cherché à refléter le mieux

possible la transmission intra et inter espèce, en ajustant les paramètres de transmission afin de reproduire les résultats des enquêtes épidémiologiques. Contrairement aux travaux antérieurs, le modèle rend compte de l'interaction entre deux espèces sauvages (cerf élaphe et sanglier) ainsi que l'effet des pratiques de chasse. Des scénarios prenant en compte différentes mesures de contrôles ont été analysés de façon qualitative, en s'intéressant aux grandes tendances possibles pour l'évolution de l'épizootie (disparition ou maintien de l'infection et des populations). Le modèle développé est une première approche des principaux déterminants devant être considérés dans l'étude de l'évolution d'une maladie qui concerne deux populations d'animaux sauvages régulées par l'homme dont les pratiques de chasse peuvent influencer sur la transmission intra- et inter-espèce de l'infection.

Dans une première partie, les données bibliographiques relatives à la tuberculose à *M. bovis* et à la modélisation de cette maladie dans la faune sauvage sont présentées. L'épidémiologie de la tuberculose bovine est décrite en mettant l'accent sur les connaissances disponibles sur les espèces sauvages. Ensuite, les mesures de contrôle et les techniques de diagnostic de la maladie, toujours dans les espèces sauvages, sont énumérées. Des éléments de l'écologie et de l'épidémiologie dans les deux espèces qui nous intéressent, cerfs élaphe et sangliers, sont rappelés. Des généralités sur la modélisation et une revue des modèles mathématiques développés sur la tuberculose bovine dans la faune sauvage concluent cette partie. La deuxième partie présente les enquêtes épidémiologiques dont les résultats d'analyse ont permis de bâtir le modèle exposé dans la troisième partie.

**GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE A  
*MYCOBACTERIUM BOVIS* DANS LA FAUNE SAUVAGE**

# 1. LA TUBERCULOSE A *MYCOBACTERIUM BOVIS* DANS LA FAUNE SAUVAGE

## 1.1. Généralités

La tuberculose à *M. bovis* est une maladie infectieuse qui atteint préférentiellement les bovins mais peut également être transmise à d'autres espèces de mammifères dont l'homme (O'Reilly et Daborn, 1995). Cliniquement, elle se caractérise par une évolution plutôt chronique, et pathologiquement par des lésions pyogranulomateuses (tubercules) dans les poumons et ganglions lymphatiques qui peuvent aussi apparaître dans n'importe quel autre organe de la victime (Bengis, 1999).

A l'heure actuelle, la tuberculose à *M. bovis* est rare en France grâce aux mesures de prophylaxie sanitaire appliquées depuis les années 1950 chez les bovins (Bénet, 2002). La prophylaxie sanitaire a évolué au cours du temps mais a reposé à la fois sur des mesures défensives (protection aux frontières, protection des étables indemnes, qualification des étables indemnes) et des mesures offensives (dépistage des élevages infectés, assainissement par abattage total des cheptels infectés, désinfection, suspension de qualification).

En 2005, les taux de prévalence et d'incidence annuelles cheptel ont été respectivement estimés à 0,033% et 0,024% (DGAL, 2007) alors qu'avant 1955 entre 10% et 20% des cheptels selon les départements étaient tuberculeux (Bénet, 2002). Néanmoins, étant donné la taille des élevages et l'importance des échanges commerciaux en France, la tuberculose à *M. bovis* fait toujours l'objet d'une surveillance particulière.

La France a été déclarée officiellement indemne de tuberculose le 27/12/2000 conformément aux dispositions de la directive 64/432/CEE de l'Union Européenne. D'après cette directive le taux d'infection tuberculeuse de la totalité du cheptel bovin du pays doit être inférieur à 0,1% depuis au moins 6 ans pour que le pays soit déclaré indemne. Il existe néanmoins certaines régions où l'infection tuberculeuse se maintient et/ou réapparaît dans les cheptels bovins. Dans le cadre du programme de surveillance de la tuberculose chez la faune sauvage, il a été envisagé d'engager des études épidémiologiques dans un certain nombre de régions afin de déterminer un lien éventuel entre la tuberculose des espèces sauvages et les foyers rencontrés dans les élevages d'animaux domestiques. C'est ainsi que la présence d'un foyer de

tuberculose à *M. bovis* dans la population de cervidés et sangliers sauvages en forêt de Brotonne (départements de Seine-maritime et de l'Eure) a été mise en évidence en 2001 (cf. paragraphes 2.2.1. et 2.3.1.). Neuf foyers de tuberculose à *M. bovis* avaient été déclarés depuis 1986 à proximité de la forêt de Brotonne dont quatre en 1999-2000. Les enquêtes épidémiologiques concernant ces foyers n'avaient pas permis d'élucider leur origine et, suite à la confirmation du foyer dans la faune sauvage, celle-ci a été évoquée comme possible source de la contamination. L'apparition de foyers d'origine inexpliquée dans des élevages bovins a donné aussi lieu à des enquêtes dans la faune sauvage en Haute-Corse (2003), en Côte-d'Or (2003-2006), dans les Pyrénées Atlantiques (2005) et en Dordogne (2005). Au contraire du foyer enregistré en Normandie, seuls quelques animaux ont donné des résultats positifs pour *M. bovis* en Haute-Corse, Côte-d'Or et les Pyrénées Atlantiques et aucun ongulé sauvage n'a été trouvé infecté en Dordogne (cf. paragraphe 1.1.2.).

L'apparition d'un réservoir sauvage de la tuberculose à *M. bovis* en France constitue une menace pour le programme d'éradication de cette maladie. En effet, la maladie peut se propager à d'autres populations d'animaux sauvages à travers la migration d'individus infectés ou contaminer d'autres espèces sauvages qui vont être à leur tour source de contamination pour les animaux domestiques d'élevage.

### **1.1.1. Taxonomie**

Dans l'ordre des Actynomycétales, les mycobactéries appartiennent au genre *Mycobacterium* qui est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae* (Rastogi *et al.*, 2001). Les mycobactéries sont des bactéries en forme de bâtonnets occasionnellement ramifiées, immobiles, asporulées, aérobies et acido-alcool-résistantes (Rastogi *et al.*, 2001).

L'agent principal de la tuberculose bovine, *M. bovis*, pathogène pour de nombreuses espèces, dont l'homme, appartient au « complexe tuberculosis ». Ce complexe, très homogène sur le plan génétique comporte un nombre croissant de membres (*M. africanum*, *M. canetti*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. tuberculosis*) (Brosch *et al.*, 2002; Aranaz *et al.*, 2003; Cousins *et al.*, 2003). Le complexe *Mycobacterium avium* inclut l'agent de la tuberculose aviaire (*M. avium*) et celui de la paratuberculose (*M. paratuberculosis*), une entérite inflammatoire hypertrophiante qui affecte principalement les ruminants de rente (Mijs *et al.*, 2002; Biet *et al.*, 2005). Les autres mycobactéries qui

n'appartiennent pas aux complexes tuberculosis ou *M. avium* telles que *M. fortuitum* ou *M. kansasii*, et à l'exception de *M. leprae* et *M. lepraemurium*, sont dénommées mycobactéries « non agents de tuberculose » ou « atypiques ».

### 1.1.2. Présence de la tuberculose à *M. bovis* dans la faune sauvage

La tuberculose à *M. bovis* dans la faune sauvage terrestre est présente sur tous les continents (Tableau I) et est une préoccupation majeure dans de nombreux pays. D'importants foyers sauvages de tuberculose à *M. bovis* ont été répertoriés dans plusieurs pays :

- en Angleterre (sud-ouest du pays) (Muirhead *et al.*, 1974; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000; Delahay *et al.*, 2001; Simpson, 2002) et en Irlande (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000), le blaireau (*Meles meles*) largement infecté par *M. bovis* est considéré comme en partie responsable, depuis le début des années 70, de la recrudescence de la tuberculose à *M. bovis* et pose des problèmes jusqu'à présent insolubles pour son éradication.
- en Nouvelle-Zélande, le possum ou phalanger renard (*Trichosurus vulpecula*), espèce introduite, a été considéré comme une source de contamination pour les bovins domestiques depuis 1967 (Ekdahl *et al.*, 1970). Les efforts pour éradiquer la maladie bovine dans certaines régions ne donnent pas les résultats escomptés à cause de la présence de cette espèce qui est considérée comme réservoir de la tuberculose à *M. bovis* (Buddle *et al.*, 1994; Coleman et Cooke, 2001). D'autres espèces de mammifères terrestres, toutes également introduites, telles que le furet (*Mustela furo*), sont des réservoirs potentiels de la maladie (Coleman et Cooke, 2001).
- aux Etats-Unis d'Amérique, dans l'état du Michigan, l'infection du cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) par *M. bovis* a été détectée en 1994 (Schmitt *et al.*, 1997). Le développement de la maladie a été favorisé par le nourrissage hivernal des cervidés entraînant d'importantes concentrations d'animaux (Miller *et al.*, 2003). Postérieurement, la tuberculose est apparue dans plusieurs élevages bovins du même Etat (Palmer *et al.*, 2004.)

- au Canada, le bison (*Bison bison*) dans le parc national Wood Buffalo (Alberta) et le wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) dans le Parc national Riding Mountain (Manitoba) représentent un important réservoir de *M. bovis* (Lees *et al.*, 2003; Nishi *et al.*, 2005).
- en Afrique du sud, la tuberculose à *Mycobacterium bovis* est enzootique chez le buffle (*Syncerus caffer*) depuis le début des années 90 (De Vos *et al.*, 2001) (Rodwell *et al.*, 2001) et chez le grand koudou (*Tragelaphus strepsiceros*) depuis 1996 (Keet *et al.*, 2001) dans le Parc National Kruger. Elle représente un problème sanitaire et écologique majeur puisque les grands prédateurs (lions, léopards, guépards) sont maintenant contaminés (Keet *et al.*, 1996) et les risques de transmission aux bovins sont importants.
- en Arabie Saoudite, la population rélictuelle d'oryx d'Arabie (*Oryx leucoryx*) captifs a été mise en péril par la tuberculose (Flamand *et al.*, 1994). L'espèce doit son salut au programme d'assainissement par traitement médical mené au centre de Taïf qui a permis de relâcher dans le désert des animaux indemnes (Greth *et al.*, 1994).
- dans le sud et centre de l'Espagne, la tuberculose à *M. bovis* a été identifiée chez le cerf élaphe (*Cervus elaphus*), le daim (*Dama dama*), le sanglier (*Sus scrofa*) et le lynx pardelle (*Lynx pardina*) (Aranaz *et al.*, 2004). Le nombre de cas est en forte augmentation depuis 1990 (Parra *et al.*, 2005; Vicente *et al.*, 2006).
- en Italie, *M. bovis* a été isolé chez des sangliers de la région de Ligurie (Serraino *et al.*, 1999; Bollo *et al.*, 2000).
- en France, plusieurs cas ont été observés dans des élevages de cervidés, mais aucun foyer de tuberculose n'a été décrit jusqu'en 2001 dans la faune sauvage en liberté. En 1999/2000, une étude a été menée sur les sangliers du département de la Savoie, afin de faire une comparaison avec la situation dans le Piémont italien voisin (Hars et Gauthier, 1999). *M. bovis* n'a pas été isolé des 134 animaux contrôlés. Un sanglier, en revanche, était infecté par *M. paratuberculosis*. En 2001-2002, à la suite de la découverte de lésions tuberculeuses et de l'isolement de *M. bovis* chez un faon, un cerf adulte et une biche, une enquête menée dans la faune sauvage (cerfs, chevreuils et sangliers) a mis en évidence un foyer sauvage à *M. bovis* en forêt de Brotonne (départements de la Seine Maritime et de

l'Eure) chez les cerfs élaphe et les sangliers (Hars, 2002). Dans d'autres départements français, des animaux infectés par *M. bovis* ont également été trouvés infectés, mais de façon ponctuelle, sans que la circulation de la bactérie soit confirmée par des enquêtes ultérieures. Dans le département de la Haute-Corse, *M. bovis* a été mis en évidence chez cinq sangliers (100 animaux prélevés) en 2003. Entre 2003 et 2006, *M. bovis* a été isolé chez deux sangliers (108 animaux prélevés) et un cerf élaphe (305 animaux prélevés) en Côte-d'Or. En 2005, deux sangliers (86 animaux prélevés) dans les Pyrénées Atlantiques ont donné des résultats positifs pour *M. bovis*. Parmi 391 cerfs, sangliers et chevreuils examinés en Dordogne en 2005, aucun n'a été trouvé infecté (Hars *et al.*, 2006).

**Tableau I. Liste non exhaustive des espèces de mammifères sauvages chez lesquelles *Mycobacterium bovis* a été isolé**

Ordre	Espèce	Pays	Références
Marsupiaux	Opossum de Virginie ( <i>Didelphis virginiana</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
Insectivores	Possum ( <i>Trichosurus vulpecula</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Hérisson ( <i>Erinaceus europaeus</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Musaraigne carrel ( <i>Sorex araneus</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Taube ( <i>Talpa europaea</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002)
Lagomorphes	Lapin ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Lièvre ( <i>Lepus europaeus</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
Primates	Babouin ( <i>Papio ursinus</i> )	Afrique du Sud	(Keet <i>et al.</i> , 1996)
Rongeurs	Campagnol agreste ( <i>Microtus agrestis</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Ecureuil gris ( <i>Sciurus carolinensis</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Mulot à collier ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Mulot sylvestre ( <i>Apodemus sylvaticus</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Rat surmulot ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002)
Carnivores	Belette ( <i>Mustela nivalis</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Blaireau ( <i>Meles meles</i> )	Angleterre	(Muirhead <i>et al.</i> , 1974; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000)
	Chat haret ( <i>Felis catus</i> )	Irlande	(Gallagher et Clifton-Hadley, 2000)
		Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002)
		Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Coyote ( <i>Canis latrans</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(Whipple <i>et al.</i> , 1997; Bruning-Fann <i>et al.</i> , 1998; Bruning-Fann <i>et al.</i> , 2001; O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
	Furet ( <i>Mustela furo</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002)
		Nouvelle Zélande	(de Lisle <i>et al.</i> , 1993; Coleman et Cooke, 2001)
	Guépard ( <i>Acinonyx jubatus</i> )	Afrique du Sud	(De Vos <i>et al.</i> , 2001)
	Hermine ( <i>Mustela erminea</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Léopard ( <i>Panthera pardus</i> )	Afrique du Sud	(De Vos <i>et al.</i> , 2001)
	Lion ( <i>Panthera leo</i> )	Afrique du Sud	(De Vos <i>et al.</i> , 2001)

Tableau I (cont.)

Ordre	Espèce	Pays	Références
Carnivores	Lion ( <i>Panthera leo</i> )	Tanzanie	(Cleaveland <i>et al.</i> , 2005)
	Loup ( <i>Canis lupus</i> )	Canada	(Nishi <i>et al.</i> , 2005)
	Lynx ibérique ( <i>Lynx pardina</i> )	Espagne	(Briones <i>et al.</i> , 2000; Aranaz <i>et al.</i> , 2004)
	Lynx roux ( <i>Lynx rufus</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(Bruning-Fann <i>et al.</i> , 2001; O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
	Ours noir ( <i>Ursus americanus</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(Bruning-Fann <i>et al.</i> , 2001; O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
	Putois ( <i>Mustela putorius</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Raton laveur ( <i>Procyon lotor</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(Bruning-Fann <i>et al.</i> , 2001)
	Renard ( <i>Vulpes vulpes</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Vison ( <i>Mustela vison</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Artiodactyles	Buffle africain ( <i>Syncerus caffer</i> )	Etats-Unis d'Amérique
Buffle d'eau ( <i>Bubalus bubalus</i> )		Afrique du Sud	(De Vos <i>et al.</i> , 2001) (Rodwell <i>et al.</i> , 2001)
Carnivores		Tanzanie	(Cleaveland <i>et al.</i> , 2005)
		Australie	(Tweddle et Livingstone, 1994)
	Cerf de Virginie ( <i>Odocoileus virginianus</i> )	Canada	(Nishi <i>et al.</i> , 2005)
		Etats-Unis d'Amérique	(Schmitt <i>et al.</i> , 1997)
	Cerf élaphe ( <i>Cervus elaphus</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
		Canada	(Lees <i>et al.</i> , 2003; Lees, 2004; Nishi <i>et al.</i> , 2005)
		Espagne	(Aranaz <i>et al.</i> , 2004; Parra <i>et al.</i> , 2005)
		Etats-Unis d'Amérique	(O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
		Irlande	(Quigley <i>et al.</i> , 1997)
		Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
Carnivores	Cerf mulet ( <i>Odocoileus hemionus</i> )	Etats-Unis d'Amérique	(Whipple <i>et al.</i> , 1997)
	Chevreuil ( <i>Capreolus capreolus</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Cochon marron ( <i>Sus scrofa</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)

Tableau I (cont.)

Ordre	Espèce	Pays	Références
Artiodactyles	Daim ( <i>Dama dama</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
		Espagne	(Aranaz <i>et al.</i> , 2004)
	Gnou ( <i>Connochaetes taurinus</i> )	Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
		Tanzanie	(Cleaveland <i>et al.</i> , 2005)
	Koudou, grand ( <i>Tragelaphus strepsiceros</i> )	Afrique du Sud	(De Vos <i>et al.</i> , 2001; Keet <i>et al.</i> , 2001)
	Koudou, petit ( <i>Tragelaphus imberbis</i> )	Tanzanie	(Cleaveland <i>et al.</i> , 2005)
	Muntjac ( <i>Muntiacus reevesi</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
	Oryx d'Arabie ( <i>Oryx leucoryx</i> )	Arabie Saoudite	(Flamand <i>et al.</i> , 1994)
	Sanglier ( <i>Sus scrofa</i> )	Espagne	(Aranaz <i>et al.</i> , 2004)
		Italie	(Serraino <i>et al.</i> , 1999)
	Sika ( <i>Cervus nippon</i> )	Angleterre	(Delahay <i>et al.</i> , 2002; Delahay <i>et al.</i> , 2006)
		Irlande	(Dodd, 1984)
		Nouvelle Zélande	(Coleman et Cooke, 2001)
	Topi ( <i>Damaliscus lunatus</i> )	Tanzanie	(Cleaveland <i>et al.</i> , 2005)

### 1.1.3. Transmission

#### 1.1.3.1. Directe

La transmission directe de *M. bovis* peut se faire par contact rapproché entre animaux, par inhalation, ingestion ou pénétration transcutanée. Des lésions « ouvertes » (comme des abcès cutanés ou des lésions pulmonaires) permettant l'excrétion de *M. bovis* dans le milieu extérieur favorisent la transmission. Les matières virulentes sont variées : jetage, salive, fèces, lait, urine, pus de lésions cutanées, sperme, sécrétions utérines. L'excrétion de bacilles tuberculeux, souvent intermittente, est précoce (bien avant l'apparition des symptômes) et durable. La transmission directe de la mère au fœtus ou transmission verticale est suspectée sans avoir été réellement prouvée. Une transmission pseudo-verticale, par contact étroit entre la mère et le jeune (le lait peut aussi être contaminé), expliquerait la contamination de jeunes animaux.

La transmission entre les blaireaux se ferait principalement par inhalation (notamment dans les terriers) et aussi par morsure lors des combats entre les mâles (Morris *et al.*, 1994). La prévalence élevée de la maladie chez les jeunes de cette espèce serait due à une transmission pseudo-verticale (Nolan et Wilesmith, 1994). Les mêmes modes de transmission prédominent chez les possums (Morris *et al.*, 1994). Les bovins domestiques peuvent se contaminer par inhalation en « examinant » un blaireau (Corner, 2005) ou un possum (Morris *et al.*, 1994) en phase terminale de la maladie et qui présente un comportement anormal.

Chez le cerf de Virginie la transmission inter-individus se fait aussi par inhalation (Palmer *et al.*, 1999; Palmer *et al.*, 2001; Palmer *et al.*, 2003; Corner, 2005). Au Michigan (Etats-Unis d'Amérique), cette voie de transmission a été facilitée par le rassemblement d'animaux aux sites d'affouragement pendant l'hiver. La transmission pseudo-verticale a été évoquée chez cette espèce suite à l'infection expérimentale de faons par du lait contaminé (Palmer *et al.*, 2002), mais dans la nature elle serait inhabituelle comme le suggèrent les faibles pourcentages de prévalence de la maladie observées chez les jeunes (O'Brien *et al.*, 2001).

### 1.1.3.2. Indirecte

Le milieu extérieur peut, également, en assurant la conservation des mycobactéries, permettre la transmission indirecte de la maladie entre animaux sauvages voire entre réservoirs sauvages et domestiques.

Le temps de survie de *M. bovis* dans l'environnement diffère d'une étude à l'autre. Différents travaux ont montré que *M. bovis* peut survivre dans la terre pendant six mois et dans le pâturage de 7 à 28 jours selon la température qui a un effet négatif sur la survie quand elle augmente (Phillips *et al.*, 2003). Dans les fèces de bovins contaminés, *M. bovis* peut survivre jusqu'à six mois pendant l'hiver et deux mois pendant l'été, selon la température et la concentration des agents pathogènes (Phillips *et al.*, 2003). Dans l'eau courante, qui peut être contaminée par les excréments d'animaux infectés, sa survie peut aller jusqu'à 400 jours (Phillips *et al.*, 2003). Dans une ferme irlandaise avec des antécédents de tuberculose à *M. bovis* et où la population de blaireaux avait été supprimée, *M. bovis* a été détectée par PCR dans la terre près des terriers des blaireaux et dans les champs avoisinants 4 et 21 mois après la possible date de contamination (Young *et al.*, 2005). Cependant d'autres études minimisent le rôle de l'environnement dans la transmission de *M. bovis*. Ainsi, d'après l'étude réalisée par Jackson *et al.* en Nouvelle Zélande (Jackson *et al.*, 1995), la période de survie de *M. bovis* dans l'environnement est très courte, particulièrement pendant l'été, et donc la contamination des pâtures ne jouerait pas un rôle important dans l'épidémiologie de la tuberculose chez les bovins, les cerfs élaphe et les possums. Par ailleurs, l'effet de la température sur la survie de la bactérie n'est pas univoque puisque des expériences de laboratoire ont permis de montrer que la terre chaude et humide était optimale pour la survie de la bactérie (Young *et al.*, 2005).

Dans les îles britanniques, il est généralement admis que la transmission de l'infection des blaireaux aux bovins est indirecte par contact avec du matériel virulent (Nolan et Wilesmith, 1994). Les excréments des blaireaux infectés sont impliqués dans la contamination des bâtiments des fermes et des pâturages où les bovins paissent ; ceux-ci pourraient s'infecter par inhalation en « examinant » les excréments ou en ingérant l'herbe contaminée (Gallagher et Clifton-Hadley, 2000; Gormley et Collins, 2000; Delahay *et al.*, 2002). Il a été montré que le temps de survie maximale de *M. bovis* dans l'urine, le pus ou les excréments de blaireaux infectés était de 70 jours en hiver et de deux semaines en été, sa survie dans des carcasses de blaireaux infectés laissées sur les pâturages étant inférieure à quatre semaines. A l'origine, les

blaireaux se seraient contaminés en fourrageant dans les excréments des bovins à la recherche d'invertébrés, quand la maladie était répandue dans les élevages bovins (Delahay *et al.*, 2002). Une situation similaire est observée en Nouvelle-Zélande avec le possum et le furet en ce qui concerne la contamination des fermes et des pâturages (Paterson *et al.*, 1995; Sauter et Morris, 1995). Morris *et al.* concluent que la transmission à partir du matériel virulent comparée à d'autres mécanismes de transmission serait bien moins efficace qu'une transmission directe (Morris *et al.*, 1994).

L'aliment distribué pendant l'hiver au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) serait responsable de la dissémination de *M. bovis* parmi la population de cerfs de Virginie (Miller *et al.*, 2003; Corner, 2005) et de la contamination occasionnelle de cerfs élaphe sauvages (O'Brien *et al.*, 2005) ainsi que de bovins. La transmission indirecte a été mise en évidence expérimentalement en fournissant à des cerfs (Palmer *et al.*, 2004) ou à des bovins sains (Palmer *et al.*, 2004) un aliment qui avait été en contact avec des cerfs infectés. L'aliment stocké par les fermiers est d'accès facile pour les cerfs qui pourraient le contaminer. Les pâturages partagés entre les bovins et les cerfs, pourraient également être une source de contamination pour les bovins (O'Brien *et al.*, 2005).

Enfin, chez certaines espèces, le bacille est ingéré lorsqu'un animal consomme la carcasse d'un hôte infecté. C'est le cas en Nouvelle-Zélande, où la présence de l'infection dans certaines populations de furets est attribuée à la consommation de carcasses de possums infectés (Lugton *et al.*, 1997).

## 1.1.4. Diagnostic

### 1.1.4.1. Ante-mortem

Les signes observés chez les animaux atteints de tuberculose à *M. bovis* ne sont pas pathognomoniques. Par ailleurs, le portage asymptomatique est plus fréquent que les formes cliniques. Le recours à des tests de diagnostic est donc indispensable. L'essentiel des tests de diagnostic développés en matière de tuberculose repose sur la mise en évidence de réactions immunologiques.

Dans l'étape pré-clinique de la tuberculose, c'est la réponse immunitaire de type cellulaire qui prédomine (de Lisle *et al.*, 2002). Le test d'intra-dermotuberculation permet de détecter cette réponse en utilisant comme antigène des dérivés protéiniques purifiés (purified protein derivatives, PPD). Il est l'outil de base des programmes de lutte d'éradication de la tuberculose à *M. bovis* dans les élevages bovins. Les PPD sont injectées par voie intradermique au niveau du cou et l'augmentation de l'épaisseur de la peau 72 heures après l'injection détermine si l'animal est réagissant. Ce test a été utilisé expérimentalement chez un certain nombre d'espèces d'animaux sauvages, notamment chez le cerf élaphe (Kollias *et al.*, 1982; Corrin *et al.*, 1993) et le cerf de Virginie (Palmer *et al.*, 2001). Les résultats intéressants obtenus chez ces deux espèces ont abouti à son utilisation dans les élevages de cerfs domestiques. Inversement, la tuberculation ne semble engendrer qu'une faible réponse chez le blaireau et le possum (de Lisle *et al.*, 2002). La lecture différée (48 à 96 heures) du test de tuberculation intradermique constitue un obstacle non négligeable à son utilisation chez des espèces sauvages (complexité de la détention des animaux ou de la re-capture d'un animal précis dans son milieu naturel).

Les tests liés à la mise en évidence *in vitro* de la réponse immunitaire cellulaire présentent comme avantage par rapport à la tuberculation le fait qu'une seule manipulation de l'animal suffit et qu'il peut être libéré une fois le résultat obtenu. Un test de ce type (essai de prolifération lymphocytaire) a été utilisé chez un certain nombre d'espèces qui incluent le cerf élaphe, le possum, le blaireau et l'oryx (Flamand *et al.*, 1994; Griffin et Buchan, 1994; Cross *et al.*, 1999; Dalley *et al.*, 1999; Buddle et Young, 2000). Son grand désavantage est que les prélèvements sanguins doivent être traités dans les 24 à 30 heures après leur collecte, ce qui limite son utilité sur le terrain. Un autre test *in vitro* a été développé pour détecter

l'interféron- $\gamma$  dans des hémocultures en présence d'antigènes mycobactériens chez les bovins infectés par *M. bovis* (Rothel *et al.*, 1990; Ritacco *et al.*, 1991; Gormley *et al.*, 2006). Ce test a été adapté au diagnostic chez le buffle africain (de Lisle *et al.*, 2002), le cerf élaphe (Slobbe *et al.*, 2000) et le cerf de Virginie (Palmer *et al.*, 2004; Waters *et al.*, 2004). Le test chez les cervidés doit être effectué dans les 12 heures après la collecte du sang, ce qui limite aussi son usage sur le terrain (Palmer *et al.*, 2004). Un essai de terrain à petite échelle, conduit au Michigan en utilisant le test de l'interféron- $\gamma$  pour tester 119 cerfs de Virginie, (O'Brien *et al.*, 2005) suggère que, pour des raisons techniques, ce test n'est pas adapté à des études à grande échelle.

Un facteur important qui peut fausser les résultats des tests liés à l'immunité cellulaire est le stress dû à la capture. Une immunodépression a été signalée chez des possums et des furets sauvages après leur capture (Buddle *et al.*, 1992; Cross *et al.*, 1999).

Parallèlement aux tests fondés sur la réponse immunitaire cellulaire existent quelques tests sérologiques, liés à la réponse immunitaire humorale, développés pour le diagnostic de la tuberculose à *M. bovis* chez le cerf élaphe (O'Brien *et al.*, 2004), le blaireau (Goodger *et al.*, 1994; Nolan et Wilesmith, 1994) et le possum (Buddle *et al.*, 1995) mais leur sensibilité s'est avérée très faible. Étant donné la localisation essentiellement pulmonaire ou digestive de *M. bovis*, les recherches s'orientent vers la mise en évidence d'immunoglobulines A (support de l'immunité locale), salivaires en particulier (Buddle *et al.*, 2000).

#### **1.1.4.2. Post-mortem**

Chez l'animal mort, ni les lésions post-mortem, ni les résultats histopathologiques ne sont pathognomoniques de la tuberculose. Même à partir de lésions visibles typiques de tuberculose, il n'est pas toujours possible d'obtenir des cultures de *M. bovis*. Dans une étude, l'infection n'a été confirmée que dans 84% des cas de lésions macroscopiques chez des cerfs élaphe (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). *M. avium* et *M. paratuberculosis* peuvent produire le même type de lésions macroscopiques que *M. bovis* chez le cerf élaphe (Mackintosh *et al.*, 2004) alors que *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinobacillus* ou *Actinomyces spp.* (Schmitt *et al.*, 1997) peuvent induire les mêmes lésions que les mycobactéries atypiques (O'Brien *et al.*, 2004) chez le cerf de Virginie. Chez le cerf mulet, *Mycobacterium kansasii* peut également entraîner ce type de lésions (Briggs *et al.*, 2005).

*Yersinia pseudotuberculosis*, qui a été observée chez des cervidés sauvages, peut aussi causer des lésions similaires à celle de la tuberculose par *M. bovis* (Lugton *et al.*, 1998; Delahay *et al.*, 2006). Des lésions dans les poumons produites par des parasites tels que *Protostrongylus spp.* (Delahay *et al.*, 2006) et *Dictyocaulus viviparus* (Lugton *et al.*, 1998) pourraient faire penser à des lésions de tuberculose chez les cervidés. Chez le porc domestique, le porc marron (porc domestique devenu sauvage) et le sanglier, des mycobactéries du complexe *M. avium* et des mycobactéries atypiques telles que *M. kansasii* et *M. fortuitum* ont été isolées dans des lésions des noeuds lymphatiques mandibulaires, du pharynx et des noeuds lymphatiques mésentériques (de Lisle, 1994; Machackova *et al.*, 2003; Pate *et al.*, 2004). L'infection par *Rhodococcus equi* peut aussi entraîner des lésions similaires à celles produites par *M. bovis* chez ces mêmes animaux (Katsumi *et al.*, 1991; de Lisle, 1994; Pate *et al.*, 2004). D'un autre côté, les animaux qui ne présentent pas des lésions post-mortem évidentes de tuberculose peuvent être infectés (Delahay *et al.*, 2006). Dans une étude en Nouvelle Zélande, 16 cerfs élaphe, parmi 58 qui ont donné des résultats positifs par culture bactériologique, ne présentaient pas de lésions macroscopiques (Lugton *et al.*, 1998). Le diagnostic définitif repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie; la culture bactérienne est donc le test de référence (de Lisle *et al.*, 2002). Griffin et Buchan (Griffin et Buchan, 1994) signalent que la culture de *M. bovis* à partir de prélèvements du terrain est spécifique à 100% mais que sa sensibilité varie considérablement selon les laboratoires. Un des désavantages de cette technique est qu'elle nécessite de plusieurs semaines à quelques mois avant d'arriver à un résultat (de Lisle *et al.*, 2002) du fait de la croissance très lente de la bactérie. Des techniques plus rapides telles que l'amplification en chaîne par la polymérase (polymérase chain reaction, PCR) ont été utilisées pour la détection de *M. bovis* dans des prélèvements de tissus. Aucun de ces tests n'a atteint la sensibilité ni la spécificité de la culture bactérienne (Collins *et al.*, 1994; de Lisle *et al.*, 2002; Hénault *et al.*, 2006).

Des techniques de typage moléculaire ont été utilisées pour faire des analyses phylogénétiques des mycobactéries pathogènes (Haddad *et al.*, 2004; Hewinson *et al.*, 2005) ainsi que pour des études épidémiologiques de la tuberculose à *M. bovis* (Haddad *et al.*, 2001; de Lisle *et al.*, 2002). La caractérisation fine des souches de *M. bovis* a permis, grâce au pouvoir discriminant de ces techniques, d'établir dans différents cas la transmission de la maladie entre les animaux sauvages et domestiques ou une circulation de la mycobactérie entre élevages (O'Brien *et al.*, 2002; Aranaz *et al.*, 2004).

### **1.1.5. Risque de transmission de la tuberculose à *M. bovis* de la faune sauvage à la faune domestique et à l'homme**

Historiquement, la tuberculose à *M. bovis* serait une maladie des bovins européens qui aurait été disséminée dans plusieurs pays d'autres continents pendant la période coloniale avec le transport de bovins destinés à être exploités dans ces colonies. Les bovins infectés seraient devenus une source importante de contamination pour le bétail local ainsi que pour les espèces sauvages d'animaux qui partageaient le même habitat (Bengis, 1999). Le même phénomène se serait produit dans les pays européens où les espèces animales sauvages auraient été contaminées par des bovins domestiques.

Une fois qu'une espèce sauvage est infectée, la maladie peut devenir endémique et cette espèce devenir réservoir de la maladie. D'après Haydon *et al.* ((Haydon *et al.*, 2002) un réservoir d'une maladie peut se définir comme une ou plusieurs populations épidémiologiquement liées qui assurent la survie d'un agent pathogène et qui peuvent donc être une source de contamination pour d'autres espèces. Une espèce peut être un hôte d'entretien de la maladie si elle assure la survie du microorganisme mais une espèce qui n'est pas essentielle à la survie de l'agent pathogène peut jouer un rôle important dans la transmission de la maladie à d'autres espèces, elle fait donc aussi, selon Haydon *et al.* (2002), partie du réservoir. Par exemple, le virus de la fièvre aphteuse persiste dans les troupeaux de buffles africains et cependant l'impala peut représenter une source importante de cette infection pour les bovins domestiques. Ce réservoir peut constituer un risque pour la transmission de la maladie aux animaux domestiques. Pour évaluer ce risque il est tout aussi important de considérer la distribution et les caractéristiques pathologiques de l'infection à *M. bovis* chez l'espèce sauvage hôte que l'écologie de cette espèce (Delahay *et al.*, 2002). Par exemple, le blaireau constitue un risque potentiel au Royaume Uni à cause de la présence endémique de l'infection dans les populations à densité élevée de cette espèce et aussi par sa tendance à fourrager dans les pâtures et à se rapprocher des bâtiments des fermes bovines. En Nouvelle Zélande, le possum est une espèce introduite, qui s'est révélée invasive et qui a colonisé pratiquement tout le pays. Il cohabite pratiquement avec les bovins dans les lisières des forêts, fourrage dans les pâtures et s'abrite dans les bâtiments. Ses densités sont importantes dans les régions de ce pays où des élevages bovins infectés persistent. En plus, il est très sensible à l'infection par *M. bovis* et excrète *M. bovis* dans des quantités élevées (Buddle *et al.*, 1994).

La persistance ou résurgence de la tuberculose à *M. bovis* dans les élevages d'animaux domestiques dans un certain nombre de pays ont conduit à suspecter une éventuelle source sauvage de re-contamination. Différentes méthodes ont été utilisées pour établir l'existence d'un réservoir de la maladie et sa possible responsabilité dans la contamination des élevages d'animaux domestiques :

- association épidémiologique : des études cas-témoin ont permis d'identifier les blaireaux comme facteurs de risque de l'infection par *M. bovis* chez les bovins dans certaines localités du Royaume Uni (Denny et Wilesmith, 1999; White et Benhin, 2004).
- études d'intervention : le succès de mesures de contrôle visant à réduire la densité de l'espèce considérée comme réservoir fournit des preuves acceptables pour déterminer son rôle dans la transmission de la maladie. De telles études ont permis de confirmer que la réduction de la population de blaireaux par abattage diminuait l'incidence de la tuberculose dans la population bovine irlandaise (Mairtin *et al.*, 1998; Mairtin *et al.*, 1998; Griffin *et al.*, 2005). La même constatation a été faite après abattage de 70% de la population de possums dans une zone de la Nouvelle Zélande (Tweddle et Livingstone, 1994). Dans ce pays, on considère que la diminution depuis 1994 de l'incidence de la tuberculose dans les élevages de bovins et de cervidés est due en grande partie à la réduction de la population de possums (Livingstone *et al.*, 2004).
- caractéristiques antigéniques/génétiques : la caractérisation génétique des souches de *M. bovis* par des techniques moléculaires est un outil essentiel pour révéler une transmission entre la faune sauvage et la faune domestique (Delahay *et al.*, 2002) ou entre les espèces sauvages (Haydon *et al.*, 2002). Ces techniques reposent sur la caractérisation de séquences non codantes polymorphes des mycobactéries (Haddad *et al.*, 2004). Plusieurs marqueurs de ce type existent chez *M. bovis* (séquence d'insertion IS6110, séquences DR, séquences riches poly(GC), VNTR (*variable number tandem repeats*)) et le pouvoir discriminant de la technique sera d'autant plus élevée qu'un plus grand nombre de marqueurs indépendants sera utilisé. Le fait de mettre en évidence au même endroit et chez deux espèces différentes un type moléculaire rare ou un même type moléculaire avec des techniques différentes est un bon indicateur de la transmission de la bactérie entre ces deux espèces. Dans une étude en Ligurie, Italie,

le typage moléculaire de souches de *M. bovis* par spolypotypage et par la technique de polymorphisme de longueur des fragments de restriction (de l'anglais *Restriction Fragment Length Polymorphism*, ou RFLP) a permis de démontrer la présence d'une même souche chez les bovins domestiques et les sangliers sauvages, confirmant ainsi la transmission de la maladie entre ces deux espèces (Serraino *et al.*, 1999). Des méthodes de typage moléculaire ont permis également d'établir la transmission de *M. bovis* entre les porcs domestiques et les sangliers en Estrémadure (Parra *et al.*, 2003). Dans d'autres régions de l'Espagne, ces méthodes ont été aussi utilisées pour établir la transmission interspécifique de la tuberculose à *M. bovis* entre les populations locales d'espèces sauvages (cerf élaphe, sanglier, daim et lynx) et les populations bovines domestiques (Aranaz *et al.*, 2004; Gortazar *et al.*, 2005; Hermoso de Mendoza *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2005). Au Michigan (Etats-Unis d'Amérique), la technique RFLP a permis d'établir que huit des vingt foyers apparus dans des élevages bovins depuis 1997 avaient été causés par des cerfs de Virginie sauvages infectés (O'Brien *et al.*, 2002). En Grand-Bretagne, on a pu établir par RFLP et spolypotypage que dans une même région géographique les isolats de bovins et de blaireaux avaient les mêmes profils (Durr *et al.*, 2000), ces profils communs étant eux-mêmes variables selon les régions. Une étude réalisée en Irlande avec une nouvelle technique RFLP a confirmé l'identité d'isolats bovins et d'isolats de blaireaux au sein de mêmes régions (O'Brien *et al.*, 2000). En Nouvelle-Zélande, la transmission de la tuberculose à *M. bovis* entre les possums, les furets, les cerfs élaphe d'élevage et les bovins domestiques a été étudiée par l'analyse de profils de restriction de l'ADN signés par des endonucléases (DNA restriction endonuclease analysis, REA) (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991; de Lisle *et al.*, 1995). Par ailleurs, la technique RFLP et le spolypotypage ont servi pour établir la source de contamination de carnivores sauvages qui sont généralement considérés comme des « victimes » d'un point de vue épidémiologique et rarement responsables de l'entretien de la maladie. C'est le cas au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) où des coyotes se sont contaminés en consommant des cerfs de Virginie tuberculeux (Bruning-Fann *et al.*, 1998) et en Espagne, où la même souche de *M. bovis* a été isolé chez des lynx et des daims ; les daims faisant partie du régime alimentaire des lynx (Briones *et al.*, 2000). Au Montana (Etats-Unis d'Amérique), la technique RFLP a permis de confirmer la contamination de cerfs muets et de coyotes à partir de cerfs élaphe d'élevage (Whipple *et al.*, 1997). Des charognards peuvent jouer également le rôle de victimes en consommant des cadavres contaminés : au

Michigan (Etats-Unis d'Amérique), les isolats issus d'animaux à fourrure appartenant à la même souche que ceux de cerfs de Virginie (O'Brien *et al.*, 2005).

L'identification d'un réservoir sauvage de la maladie, quand il existe, doit être prioritaire afin de mettre en place des mesures de contrôle pour éviter la transmission de la tuberculose à des populations d'animaux domestiques et éventuellement pour arriver à l'éradiquer (Haydon *et al.*, 2002). C'est ce qui motive la mise en place de mesures de gestion de la tuberculose dans la faune sauvage.

L'infection des êtres humains avec *M. bovis* peut se produire par inhalation ou par la consommation de lait contaminé avec le bacille (Wedlock *et al.*, 2002). L'incidence de l'infection à *M. bovis* chez l'être humain est faible ou nulle dans les pays où la pasteurisation du lait est pratiquée et où des programmes de dépistage et d'abattage de bovins positifs à la tuberculose ont été instaurés (Phillips *et al.*, 2003). En 1995, 38 cas de tuberculose humaine à *M. bovis* ont été recensés en France soit 0,5% des 7 075 cas de tuberculose bactériologiquement confirmés et déclarés. Le taux d'incidence en France peut être estimée à 0,07 pour 100 000 habitants, comparable aux niveaux d'incidence enregistrés dans d'autres pays « développés » (Robert *et al.*, 1999). Cependant, la maladie reste un problème pour les individus à risque, tels que les éleveurs, les travailleurs des abattoirs, les vétérinaires et les individus immunodéprimés (Grange et Yates, 1994; Phillips *et al.*, 2003; Kaneene et Thoen, 2004). Parmi les personnes qui manipulent des animaux, la transmission par aérosol est la plus probable (Thoen *et al.*, 2006) mais l'infection peut être aussi transmise via des coupures ou des abrasions de la peau (Kaneene et Thoen, 2004).

Les cerfs sauvages ou issus d'élevage infectés représentent un danger pour la santé publique, plus particulièrement pour ceux qui manipulent des animaux vivants ou des carcasses (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). Dans les zones où la tuberculose à *M. bovis* est enzootique dans la faune sauvage, les chasseurs peuvent être exposés à *M. bovis* par inoculation cutanée pendant le dépeçage de l'animal ou par la consommation de venaisons mal cuites (VanTiem, 1997; Wilkins *et al.*, 2003). Au Michigan (Etats-Unis d'Amérique), la même souche de *M. bovis* qui circule dans la population de cerfs de Virginie a été isolée chez deux cas humains de tuberculose (O'Brien *et al.*, 2005). Dans ce même Etat l'infection d'un chasseur, lors du dépeçage d'un cerf de Virginie contaminé, a été confirmée en 2004 (Anonyme, 2005).

### 1.1.6. Gestion de la tuberculose à *M. bovis* dans la faune sauvage

Les approches de la gestion des maladies de la faune sauvage peuvent être classées en quatre catégories d'après Wobeser (Wobeser, 2002) :

- la prévention vise à empêcher l'introduction de la maladie dans une population qui n'en est pas atteinte. L'introduction de maladies dans des populations qui en étaient indemnes est principalement liée au déplacement d'animaux sauvages pour introduire une nouvelle espèce ou pour réintroduire une espèce qui avait disparu dans un territoire, ou à la transmission depuis la faune domestique. Des protocoles ont été élaborés afin de réduire le risque d'introduction de maladies lors des déplacements. Ainsi, *M. bovis* a été classé comme un agent infectieux à haut risque dans un protocole de santé élaboré pour déplacer des cerfs élaphe en Amérique du Nord et des mesures ont été prises pour prévenir son introduction dans un territoire indemne de la maladie (Corn et Nettles, 2001).
- l'éradication correspond à l'élimination totale d'une maladie existante. La faible probabilité de succès de cette mesure, sans passer par l'élimination de l'espèce réservoir, explique qu'elle n'ait pas été envisagée dans la faune sauvage pour la tuberculose à *M. bovis*.
- le contrôle a pour objet de réduire la fréquence d'une maladie existante dans une population à un niveau acceptable ou tolérable ou de contenir sa dissémination spatiale. Ce type de gestion implique qu'un certain niveau d'infection persistera dans la population et que les mesures de contrôle devront être maintenues de façon pérenne. Deux mesures peuvent s'appliquer pour contrôler la tuberculose à *M. bovis* dans une population d'animaux sauvages qui en est déjà atteinte : la gestion de la densité de population (déjà appliquée) et la vaccination (à l'étude) ; elles seront développées à l'alinéa suivant.
- le « laissez-faire » (aucune mesure de gestion) a été l'approche la plus fréquente par le passé et est peut être la méthode la plus raisonnable quand la faisabilité et la faible probabilité de succès d'autres options sont prises en considération.

### 1.1.6.1. Gestion de la densité de population

Plusieurs approches peuvent être envisagées pour réduire la transmission d'une maladie ou éliminer un agent pathogène dans une population (Wobeser, 2002) :

- la modification de la distribution spatiale des animaux. L'objectif de cette technique est de réduire le contact entre les animaux domestiques et les animaux sauvages infectés en délimitant de façon artificielle l'habitat de ces derniers. En Afrique du Sud des enclos ont été construits afin de séparer le buffle africain infecté par le virus de la fièvre aphteuse, par *M. bovis* et par *Théiléria* provenant de bovins domestiques (Wobeser, 2002). Les pâtures en lisière de la forêt de Brotonne, en France, ont été clôturées afin de prévenir le contact entre les cerfs élaphe tuberculeux et les bovins des cheptels domestiques avoisinants (Hars *et al.*, 2004). Cette même mesure a été appliquée, en Espagne, Castilla-La Mancha, pour séparer les animaux sauvages infectés (cerfs élaphe, sangliers) des bovins domestiques (Aranaz *et al.*, 2004), et au Canada et aux Etats-Unis d'Amérique pour empêcher l'incursion de cervidés sauvages dans les élevages (Nishi *et al.*, 2005; O'Brien *et al.*, 2005). En Espagne, le succès de l'éradication de la tuberculose à *M. bovis* dans un élevage bovin qui était infecté de façon chronique a été attribué à cette simple mesure.
- l'élimination des animaux malades de la population. L'abattage sélectif, utilisé avec succès pour le contrôle de la tuberculose dans les élevages domestiques, est difficile à appliquer à une population sauvage, non seulement parce qu'il n'existe pas de test de dépistage disponible assez sensible et spécifique mais aussi parce que l'examen d'un nombre élevé d'animaux, nécessaire à la détection de la maladie, ainsi que l'isolement des animaux sains, représenterait une tâche irréalisable du point de vue pratique (de Lisle *et al.*, 2002). La possibilité d'un dépistage annuel des blaireaux infectés en utilisant un test sérologique, déjà disponible, afin d'abattre les groupes où il aurait au moins un animal séropositif à la tuberculose, a été examinée par Woodroffe *et al.* (Woodroffe *et al.*, 1999) à l'aide d'un modèle simple et par Smith *et al.* (Smith *et al.*, 2001; Smith et Cheeseman, 2002) au moyen d'un modèle individu-centré. Ces modèles prédisaient que la maladie ne pouvait pas être contrôlée en utilisant cette technique à cause principalement de la faible sensibilité du test.

- la réduction de la densité de la population. Cette mesure est basée sur le principe épidémiologique qui prédit que pour les infections transmises par voie directe le taux de transmission individuelle et la prévalence de la maladie vont augmenter avec l'augmentation de la densité de la population. En Angleterre (Nolan et Wilesmith, 1994) et en Irlande (Griffin *et al.*, 2005), l'abattage des blaireaux est une des méthodes utilisées pour diminuer l'incidence de la tuberculose à *M. bovis* dans les élevages de bovins. Les résultats de la réduction de la densité des blaireaux en utilisant un abortif ou un contraceptif (pas encore disponibles) ont aussi été étudiés à l'aide d'un modèle individu-centré (Smith et Cheeseman, 2002). Dans certaines occasions, l'abattage des blaireaux a eu des effets contre-productifs au sud de l'Angleterre ; l'incidence dans les élevages bovins n'a pas changé ou a même augmenté (Ward *et al.*, 2006). En Nouvelle-Zélande l'abattage de possums fait partie de la campagne de contrôle de la tuberculose à *M. bovis* dans les élevages de bovins et de cerfs domestiques (Morris et Pfeiffer, 1995; O'Neil et Pharo, 1995). Roberts a suggéré que l'infection par *M. bovis* pourrait être éliminée de la population de possums de ce pays en réduisant sa population de 43% (Roberts, 1996). Au Michigan (Etats-Unis d'Amérique), une augmentation du tableau de chasse, afin de réduire la densité du cerf de Virginie, ainsi que l'interdiction de l'affouragement, qui entraînait une concentration élevée d'animaux, ont permis de diminuer la prévalence annuelle de la tuberculose chez cette espèce.
  
- l'éradication de toute la population qui a été exposée à la maladie. Dans une région d'Australie, la population de buffles d'eau, qui était devenue réservoir de la tuberculose à *M. bovis*, a été complètement éliminée (Bengis, 1999). Cette même mesure avait été proposée pour éradiquer la tuberculose dans un parc national au Canada en éliminant tous les bisons ; elle n'a pas été mise en place à cause de l'opposition ferme de l'opinion publique (Nishi *et al.*, 2005). Une mesure complémentaire est de réintroduire des animaux sains, élevés en captivité, dans les zones où une population de la même espèce a été éradiquée. Ceci a été prévu dans le parc National Kruger (Afrique du Sud) avec les buffles africains (de Lisle *et al.*, 2002) et au Canada avec les bisons (Wobeser, 2002).

Le contrôle de la tuberculose à *M. bovis* dans une population réservoir sauvage par la gestion de sa densité a des limites. Par exemple, en Nouvelle Zélande l'empoisonnement des possums

dans les zones où la tuberculose est endémique, est effectif mais une fois qu'il est arrêté, ces zones peuvent être re-colonisées rapidement. D'autre part, l'opinion publique voit d'un mauvais oeil l'usage permanent de larges doses de poison et les coûts importants des programmes de contrôle (Buddle *et al.*, 2000). Au Royaume-Uni, le blaireau est une espèce protégée et, puisque l'abattage est non-sélectif, le fait de tuer un grand nombre d'animaux non-infectés est très mal perçu par l'opinion publique (Buddle *et al.*, 2000). C'est pour ces raisons, entre autres, que d'autres solutions ont été recherchées, une des plus prometteuses étant la vaccination.

### **1.1.6.2. Vaccination**

L'objectif final de la vaccination contre la tuberculose d'une population d'animaux sauvages est d'éradiquer l'infection mais le but immédiat serait plutôt de réduire la transmission de l'infection au sein de cette espèce et plus particulièrement de supprimer la transmission aux animaux domestiques d'élevage (Buddle *et al.*, 2000).

#### **1.1.6.2.1. Types de vaccins**

Parmi les types de vaccins envisageables il en existe deux qui pourraient être utilisés dans la faune sauvage : les vaccins à bactéries vivantes atténuées, telles que la souche atténuée de *M. bovis* utilisés chez l'homme (Bacille de Calmette et Guérin, BCG), et les vaccins sous-unités (Buddle *et al.*, 2000). Les vaccins à bactéries vivantes atténuées induisent des réponses immunitaires plus fortes et ne nécessitent que d'une seule administration pour entraîner une immunité plus longue. Cette dernière caractéristique est particulièrement importante en ce qui concerne la faune sauvage car les animaux ne vont probablement ingérer qu'un seul appât contenant le vaccin ou ne seront capturés qu'une seule fois pour être vaccinés. Avec les vaccins sous-unités, il est nécessaire de faire un certain nombre de rappels pour atteindre de bons niveaux d'immunité.

Bien que peu effectif du point de vue protection, le vaccin BCG existant présente plusieurs avantages : son coût de production est faible, il peut être administré par différentes voies, il est sûr, relativement stable et réduit la dissémination sanguine des mycobactéries virulentes à l'intérieur de l'organisme, ce qui pourrait être suffisant pour arrêter sa transmission à d'autres animaux (Buddle *et al.*, 2000). Un inconvénient du vaccin BCG serait sa possible

transmission aux bovins domestiques qui pourrait entraîner des réponses positives à la tuberculination et compromettre ainsi le statut d'un élevage (Buddle *et al.*, 2002). Une alternative serait le développement d'un vaccin avec un marqueur ou la mise en place de tests diagnostiques permettant de différencier la tuberculose à *M. bovis* de l'exposition au vaccin (Buddle *et al.*, 2000). Deux antigènes, présents chez *M. bovis* virulents et absents dans le BCG, qui pourraient être utilisés dans un test basé sur la détection de l'interféron- $\gamma$  ont déjà été identifiés (Buddle *et al.*, 2005).

#### **1.1.6.2.2. Administration du vaccin**

On peut administrer un vaccin à des espèces sauvages de deux façons possibles (Buddle *et al.*, 2000). Les animaux de l'espèce cible peuvent être capturés et le vaccin injecté aux animaux en contention. Cette mesure est difficile à mettre en pratique si l'on veut atteindre un taux de couverture vaccinale élevé et par ailleurs, le stress auquel sont soumis les animaux risque d'affecter leur réponse immunitaire. Une méthode plus pratique, et qui a fait ses preuves avec le contrôle de la rage des renards en Europe, est la vaccination orale au moyen d'appâts (Aubert, 1995). L'administration d'un vaccin vivant, tel que le vaccin BCG, sous la forme d'un appât nécessite que le vaccin soit stable sous différentes conditions environnementales et pendant de longues périodes (Skinner *et al.*, 2001). Son efficacité peut être réduite par l'action des sécrétions gastriques ; une technique de micro-encapsulation serait donc à prévoir (Skinner *et al.*, 2001). D'autres méthodes ont été suggérées telle que l'administration automatique du vaccin par aérosol dès que l'animal s'approche d'un dispositif contenant un appât (Morris et Pfeiffer, 1995).

La vaccination doit toucher un pourcentage élevé des animaux afin d'avoir un impact significatif et la nécessité de revaccination de la population dépendra des taux d'immigration et de naissance et de la durée de l'immunité (Buddle *et al.*, 2005).

#### **1.1.6.2.3. Essais conduits et résultats obtenus**

Le choix d'un vaccin à utiliser sur une population sauvage doit commencer tout d'abord par des tests chez l'espèce en question, l'essai sur le terrain étant l'étape finale de l'étude d'efficacité du vaccin. Des études expérimentales ont été mises en place pour étudier l'efficacité vaccinale en utilisant des animaux des espèces cible (blaireaux, possums, cerfs,

buffles africains). Seuls les résultats d'une étude sur le terrain chez le possum ont été publiés (voir ci-bas). Les essais de terrain s'avèrent très coûteux à cause du nombre élevé d'animaux requis, du fait de la faible prévalence et de l'évolution chronique de la tuberculose, et difficiles à mettre à place d'un point de vue pratique (Griffin, 2000). Pour mesurer l'efficacité vaccinale, les tests sérologiques disponibles ne sont pas suffisamment prédictifs et il est donc nécessaire d'abattre les animaux vaccinés et les témoins pour rechercher la présence de la maladie (lésions macroscopiques) ou de l'infection (isolement de *M. bovis* sans lésions visibles) après une période de temps qui pourrait aller de deux à cinq ans.

Dans une des deux études publiées sur l'efficacité du vaccin BCG chez les blaireaux, les animaux vaccinés par voie intra-dermique ont excrété moins de bactéries et ont vécu plus longtemps que les animaux témoins après inoculation intra-dermique de *M. bovis* virulent (Stuart *et al.*, 1988). Dans une deuxième étude, les réponses immunitaires d'un groupe de blaireaux vaccinés avec des doses faibles répétées du vaccin BCG par voie sous-cutanée ont été mesurées *in vitro* et comparées à celle d'un groupe non-vacciné (Southey *et al.*, 2001). La réponse immunitaire, mise en évidence par la prolifération de lymphocytes T, a été meilleure dans le groupe vacciné. Delahay *et al.* (Delahay *et al.*, 2003) signalent que pour développer un vaccin efficace et choisir la meilleure stratégie pour son administration, il faudra tenir compte des caractéristiques écologiques et éthologiques des populations des blaireaux. Ils considèrent que la vaccination par voie orale est l'option la plus pratique pour une administration à grande échelle chez cette espèce. Puisque le succès de ce type de vaccination dépend en grande partie du nombre d'appâts ingérés, des études sur le terrain ont été entreprises en Irlande avec des appâts contenant les biomarqueurs suivants : acide iophénoxyque et tétracycline (Gormley et Collins, 2000). Les auteurs signalent que près de 80% des blaireaux des populations visées ont ingéré des appâts.

Le vaccin BCG a été administré aux possums par voie sous-cutanée, dans des formulations orales, par spray intra-nasal et intra-trachéale et par instillation intra-conjonctivale (Aldwell *et al.*, 1995; Corner *et al.*, 2001; Corner *et al.*, 2002; Skinner *et al.*, 2002; Aldwell *et al.*, 2003; Skinner *et al.*, 2005). Le vaccin BCG administré par spray intra-nasal a réduit la sévérité de la maladie et le nombre de bactéries dans le poumon et la rate dans le groupe d'animaux vaccinés après une épreuve avec *M. bovis* virulent. La réponse protectrice a été maximale 2 mois après la vaccination et était restée présente à un niveau faible après 12 mois (Corner *et al.*, 2001). Dans une étude sur le terrain, le vaccin BCG a été administré à 149 possums, avec

un nombre équivalent d'animaux non-vaccinés, par spray intra-nasal et instillation intra-conjonctivale et la protection contre l'infection naturelle a été évaluée après une période de deux années (Corner *et al.*, 2002). Le nombre d'animaux infectés a été significativement inférieur dans le groupe vacciné ( 4 animaux infectés) par rapport au groupe non-vacciné (12 animaux infectés). L'effet de plusieurs doses d'un vaccin administré par spray a aussi été examiné (Corner *et al.*, 2002). Il a été conclu que la protection serait améliorée si les vaccinations étaient répétées à des intervalles courts (hebdomadaire) ; la revaccination serait sans effet si elle se faisait à des intervalles longs (1 à 2 mois). Skinner *et al.* ont observé une meilleure réponse immunitaire en combinant un vaccin BCG avec *M. vaccae* inactivé par la chaleur (Skinner *et al.*, 2002). Dans une autre étude, l'administration orale d'un vaccin non-protégé a induit une protection faible, tandis que la protection a été améliorée avec l'administration d'un médicament pour réduire l'acidité gastrique ou par inoculation intra-duodénale (Buddle *et al.*, 1997; Skinner *et al.*, 2005). Ces résultats indiquent que le vaccin BCG doit être protégé de la dégradation dans l'estomac pour atteindre un effet maximal. Le vaccin BCG a donc été incorporé dans une formulation lipidique pour le protéger des sécrétions gastriques (Aldwell *et al.*, 2003). Les possums qui ont reçu des appâts avec ce vaccin ont présenté des niveaux de protection similaires à ceux qui avaient été vaccinés par voie sous-cutanée.

L'efficacité du vaccin BCG a été évaluée chez le cerf élaphe en appliquant une seule dose ( $10^6$  UFC) par voie sous-cutanée (Griffin *et al.*, 1999). Elle a induit une bonne protection contre la maladie (absence de lésions) mais pas contre l'infection (isolement de *M. bovis*). L'administration d'une dose de dexaméthasone de longue action au moment de la vaccination, pour simuler une situation de stress, a fait disparaître la réponse protectrice de la dose unique du vaccin. Waters *et al.* ont observé une réponse immunitaire élevée en appliquant deux doses du vaccin BCG par voie sous-cutanée ( $10^7$  UFC) à six semaines d'intervalle (Waters *et al.*, 2003). Il a été mis en évidence qu'au delà de huit semaines d'application d'une deuxième dose du vaccin, la protection diminuait (Griffin *et al.*, 2005). Une bonne réponse immunitaire, détectée par des tests in vitro, a été obtenue en administrant deux doses ( $10^7$  UFC) du vaccin BCG à six semaines d'intervalle chez le cerf de Virginie (Waters *et al.*, 2004). Aucune étude n'a été effectuée pour étudier la vaccination orale chez les cerfs, qui serait la méthode la plus rentable pour vacciner les individus sauvages (Buddle *et al.*, 2005). Des études chez les bovins (Buddle *et al.*, 2005) ont montré que le vaccin BCG incorporé dans un bolus lipidique peut induire une protection similaire à celle obtenue avec

une injection sous-cutanée et l'on peut s'attendre à ce que des résultats similaires soient observés chez les cerfs (Buddle *et al.*, 2005).

De jeunes buffles africains ont été vaccinés avec le vaccin BCG au Parc National Kruger en Afrique du Sud. Ces animaux, ainsi qu'un groupe de buffles non-vaccinés, ont été éprouvés ensuite avec du *M. bovis* virulent (Buddle *et al.*, 2005; Michel *et al.*, 2006). Aucune différence statistiquement significative en termes de taux d'infection ou d'importance de lésions n'a été trouvée entre les deux groupes (Anonyme, 2005).

Il est suggéré par différents auteurs que la seule application de la vaccination à grande échelle d'un réservoir sauvage de la tuberculose ne suffira pas pour contrôler la maladie ; elle devra être couplée avec d'autres mesures (élimination des animaux malades, abattage ou contraception) afin d'arriver à obtenir de bons résultats (Morris et Pfeiffer, 1995; Smith *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2006).

**INFORMATIONS ECOLOGIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES  
SUR LE CERF ELAPHE ET LE SANGLIER**

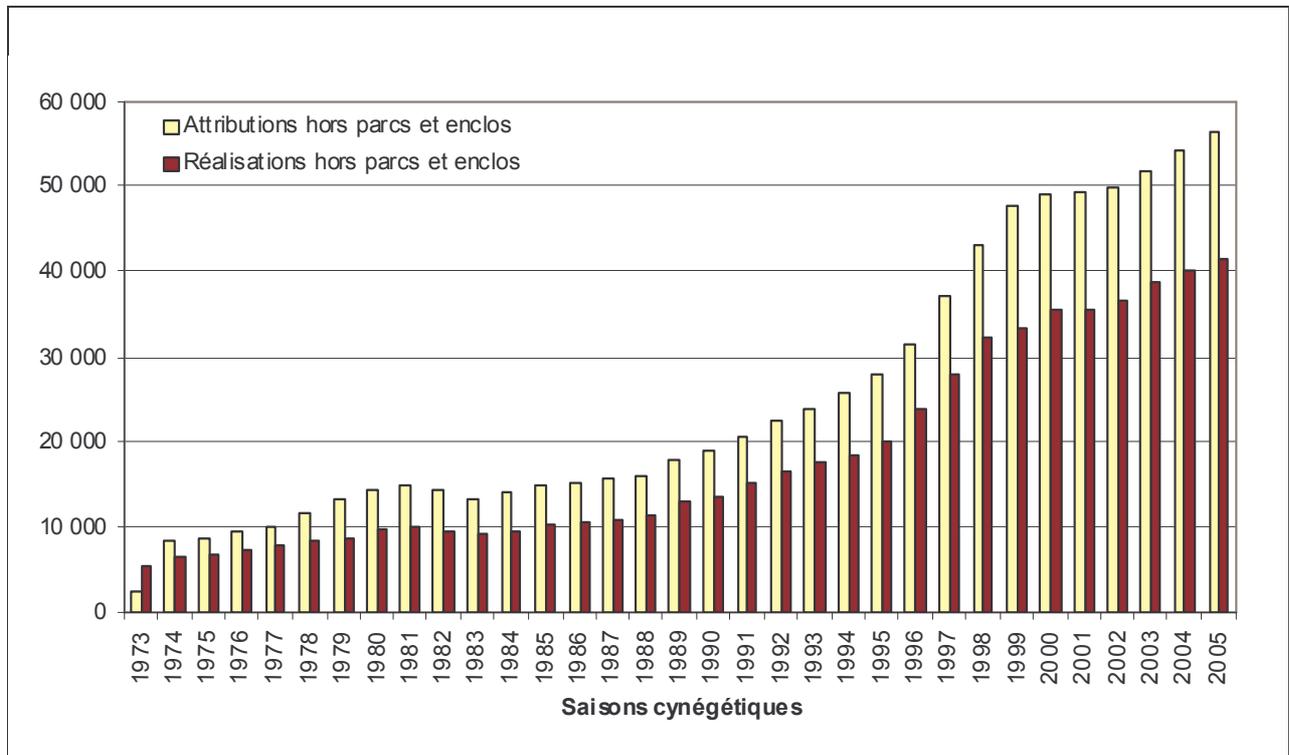
## 1.2. Informations écologiques et épidémiologiques sur le cerf élaphe et le sanglier

Dans cette partie de la révision bibliographique, nous allons nous intéresser de plus près aux deux espèces sauvages chez lesquelles la tuberculose à *M. bovis* a été enregistrée en France : le cerf élaphe et le sanglier.

Il faut savoir qu'en France les populations d'ongulés avaient fortement diminué à partir du Moyen Age et qu'elles étaient à des niveaux très faibles après la seconde guerre mondiale. C'est seulement avec la création de l'office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) en 1972 que la chasse au grand gibier a été mieux réglementée afin de permettre une augmentation des populations. Le plan de chasse dans sa première version date d'une loi du 30 juillet 1963. A la suite de la loi sur la protection de la nature de juillet 1976, le plan de chasse a été généralisé (arrêté ministériel du 20 décembre 1978, remplacé par l'arrêté du 31 juillet 1989). Entre-temps à partir de 1970 il y a eu une intensification des introductions et ré-introductions du grand gibier dans diverses régions de la France à partir des réserves nationales de chasse.

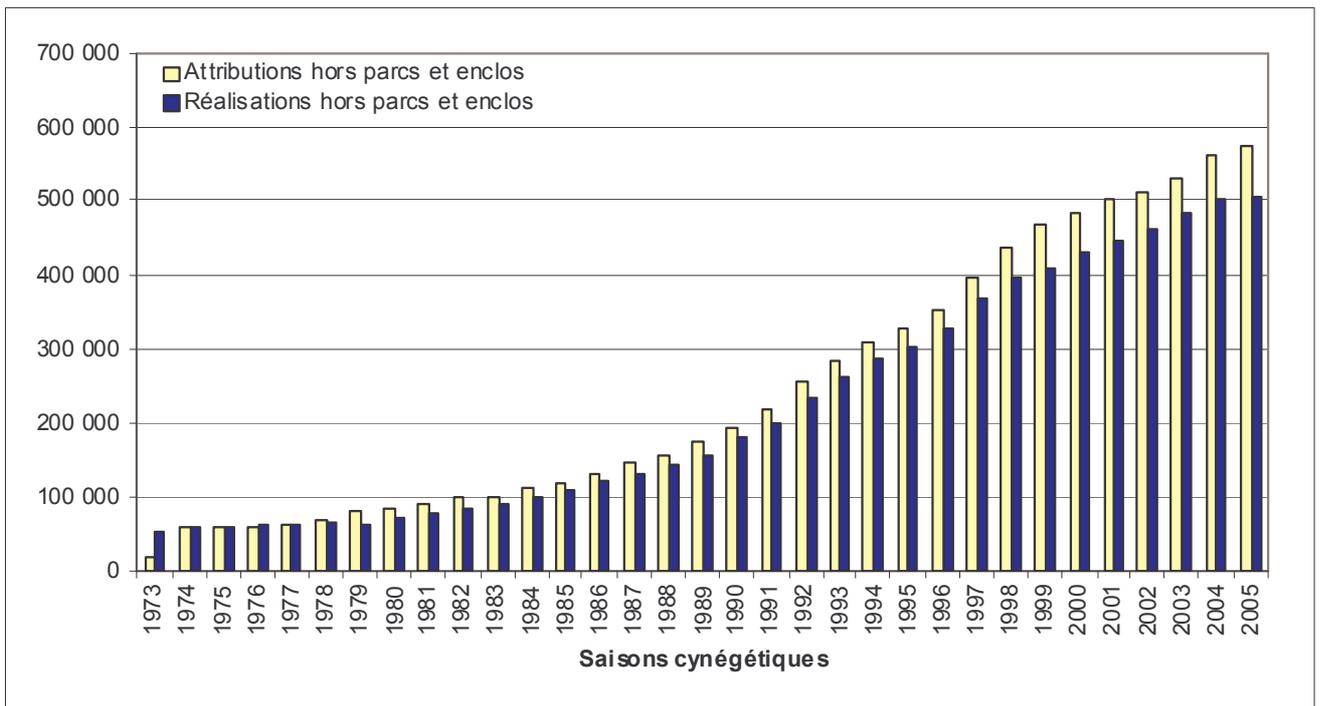
Les effectifs des cerfs élaphe et des chevreuils en France sont estimés par des méthodes de comptage standardisées. Les plans de chasse du cerf élaphe et du chevreuil consistent chaque année, après estimation des tailles des populations, à attribuer un nombre déterminé de « bracelets » aux chasseurs (attributions), ce qui permet de contrôler le nombre effectif d'animaux chassés (réalisations). Les réalisations des tableaux de chasse de ces deux espèces donnent donc une idée de l'évolution de ces populations (Figures 1 et 2) (ONCFS, Sous presse). Elles sont en constante augmentation depuis une dizaine d'années. En ce qui concerne le sanglier, le plan de chasse n'est pas obligatoire en France et le niveau des prélèvements cynégétiques est conditionné par de nombreux facteurs exogènes (nombre de chasseurs, mode de chasse, climat...), ainsi que par le mode de gestion pratiqué dans le département considéré (niveau d'attributions, restrictions de tir, plan qualitatif...). Durant les années 1980, la volonté de développer les populations de sangliers a conduit à la mise en place de mesures de gestion conservatoire, localisées principalement dans l'est et le sud du pays. Cette politique s'est accélérée et surtout généralisée dans les années 1990 (ONCFS, Sous presse). L'évolution des prélèvements cynégétiques depuis 25 années confirme la très forte progression des populations (Figure 3). Alors que les prélèvements nationaux avaient

enregistré des progressions annuelles fortes et régulières de 1989 à 1998 (14 % d'augmentation annuelle moyenne), on observe un « tassement » de cette variation depuis 1999, qui est devenue quasiment nulle de 2002 à 2005. Ces résultats traduisent très probablement le ralentissement de la progression des populations (ONCFS, Sous presse).



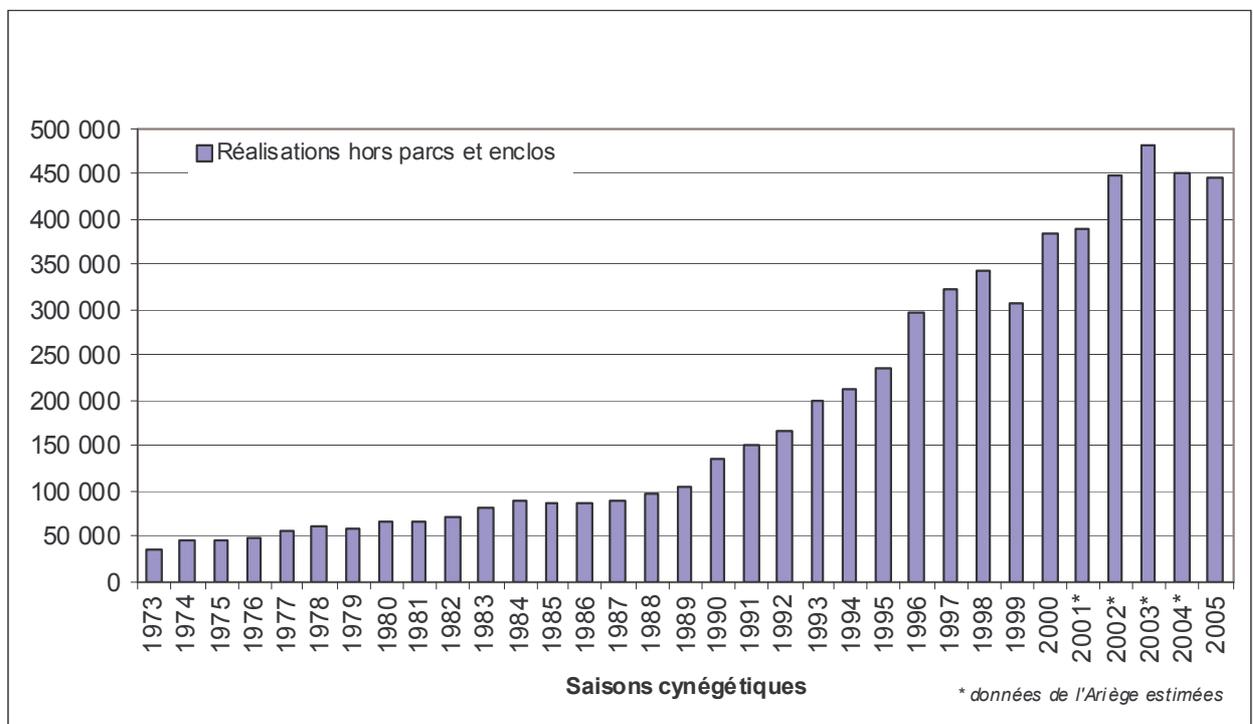
*Données issues du Réseau Ongulés Sauvages ONCFS/FNC/FDC*

**Figure 1. Evolution des tableaux de chasse nationaux du cerf élaphe**



Données issues du Réseau Ongulés Sauvages ONCFS/FNC/FDC

Figure 2. Evolution des tableaux de chasse nationaux du chevreuil



\* données de l'Ariège estimées

Données issues du Réseau Ongulés Sauvages ONCFS/FNC/FDC

Figure 3. Evolution des tableaux de chasse nationaux du sanglier

### 1.2.1. Ecologie du cerf élaphe

Le cerf élaphe est un mammifère de l'ordre des artiodactyles et de la famille des cervidés. On le trouve en Europe, Asie et Amérique du Nord. Il a été introduit en Argentine et en Nouvelle Zélande (Fletcher, 1984). Un cerf peut vivre jusqu'à 20 ans, l'âge moyen à la mort (pour l'essentiel par chasse) étant de 3 à 5 ans (Mardyla, 1981). La maturité sexuelle est atteinte vers 15 mois chez les mâles et les femelles en milieu riche, alors qu'en milieu pauvre, la biche peut n'être apte à la reproduction qu'après 2 ans et demi (Peyre-Mandras, 1990). La biche est généralement unipare. La naissance des faons est échelonnée de la fin mai à juillet, avec un maximum à la mi-juin. Le faon est sevré entre 3 et 6 mois mais l'allaitement dure en tout 8 à 10 mois (Mardyla, 1981).

Une famille type est constituée par la biche (plus de 2 ans), le faon (6 mois) et la bichette (1 an à 2 ans) ou le daguet (18 mois). Une harde de femelles est constituée par le rassemblement de plusieurs familles. Souvent l'hiver, chaque famille se regroupe en une harde plus ou moins importante. Ces hardes sont des associations plus lâches que le type familial. Il existe des hardes de 30 à 80 sujets, mais leur composition varie de jour en jour. Il n'y a pas de défense ni de marquage du territoire. L'absence de territoire explique la forte densité de cerfs à certains endroits en hiver. Hors période de rut, les mâles vivent solitaires ou en groupes de 2 à 60 individus, avec une forte proportion de jeunes et de cerfs d'âge moyen (5 à 8 ans). Le cerf élaphe est une espèce polygyne, les mâles fécondant de nombreuses femelles à chaque saison de reproduction. Le rut est caractérisé par la formation du harem ou harpail et par la défense d'un certain espace où se trouvent les femelles et pour lequel les mâles s'affrontent. Les harems se forment en début de rut. Les plus beaux cerfs forment les plus beaux harpails, souvent composés d'une quinzaine de biches plus les faons. Le rut se déroule en général du 15 septembre à la fin octobre. A la fin de l'été, le nombre des simulacres de combat augmente, les hardes de mâles se disloquent, les grands cerfs partent à la recherche d'une place de brame. Les cerfs errent, puis commencent la constitution du harem sur l'espace du brame. A l'époque du rut les mâles pubères défendent un territoire contre d'autres mâles. Au début du rut, certaines biches montrent de l'agressivité à l'égard des jeunes cerfs qui accompagnent les groupes familiaux. A la fin du rut les vieux cerfs reprennent leur existence solitaire, les autres se regroupent et reforment des hardes.

Hormis entre biche et faon, il n'y a que peu de contact mutuel entre animaux, à l'inverse des bovins ou des antilopes ; les cerfs se lèchent eux-mêmes. Cependant, comme les hardes pâturent en groupe dense, il existe des querelles du fait du trop grand rapprochement ou du fait qu'un animal veut en chasser un autre plus faible. De plus, les cerfs, contrairement aux biches, se lèchent et se mordillent réciproquement (Mardyla, 1981).

Le domaine vital, qui peut se définir comme l'espace utilisé par un animal pour satisfaire l'ensemble de ses besoins (Moutou, F., communication personnelle), avoisine 1000 ha chez la femelle et dépasse probablement 5000 ha chez le mâle adulte. Lors de processus de colonisation de zones non occupées, les mâles constituent la classe pionnière (Peyre-Mandras, 1990).

## **1.2.2. Infection du cerf élaphe par *M.bovis***

### **1.2.2.1. Clinique et pathogénie**

Chez les cervidés, dont le cerf élaphe, la maladie causée par *M. bovis* est subaiguë ou chronique. Certains animaux peuvent être atteints de façon sévère en six mois, tandis que d'autres peuvent survivre sans signes apparents de maladie pendant plusieurs années (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). Les signes cliniques sont imprédictibles, ce qui est dû à la distribution variable des lésions (Buchan et Griffin, 1990). Si l'infection reste localisée dans les ganglions lymphatiques, il peut ne pas y avoir de signes cliniques tout au long de la vie de l'animal. Une distribution plus généralisée des lésions, en particulier dans les poumons, peut produire une émaciation progressive, mais l'émaciation peut ne pas être perçue avant un stade avancé de la maladie (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). L'atteinte des poumons peut aussi produire des problèmes respiratoires de différents degrés. L'infection des ganglions lymphatiques superficiels peut produire des fistules à travers la peau, avec la décharge d'un pus épais et crémeux (Reid, 1992; Mackintosh *et al.*, 2004). Quand un animal montre des signes cliniques de la maladie, sa mort peut se produire en 1 à 2 semaines (Griffin et Buchan, 1994).

A partir du nombre limité d'études chez les cervidés, il semblerait qu'après infection, les facteurs qui déterminent la croissance et la dissémination de l'agent pathogène dans l'organisme sont similaires à ceux du bovin. Ils incluent la résistance innée de l'individu,

l'état alimentaire, le statut de l'animal dans le troupeau et la dose infectante. Cependant, on considère que le cerf élaphe est moins résistant à *M. bovis* que les bovins, à cause de la tendance à la formation d'abcès au lieu de granulomes. Il semble ne pas y avoir de prédisposition liée au sexe et les rapports sur l'infection font référence à des cervidés de tout âge (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991; Lugton *et al.*, 1998). Des observations en Angleterre suggèrent cependant que les faons sont plus sensibles à l'infection et présentent plus souvent des formes aiguës de la maladie que les adultes (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). Malgré tout, d'après Griffin et Buchan (1994), les animaux jeunes sont particulièrement sensibles à l'infection et peuvent abriter des quantités élevées de la bactérie, sans aucune évidence pathologique de la maladie ou réponse immunologique caractéristique de la tuberculose. Les cervidés de moins de six mois d'âge peuvent abriter un grand nombre de *M. bovis* dans leurs tissus lymphatiques sans présenter des lésions macroscopiques (Griffin et Buchan, 1994).

Le rôle joué par l'immuno-compétence de l'individu dans l'installation de la maladie est fondamental (Reid, 1992). Le cerf serait plus sensible au stress que les bovins (Griffin et Mackintosh, 2000) et l'effet immunosuppresseur d'un stress peut compromettre la capacité de l'animal à résister à l'infection par *M. bovis* (Buchan et Griffin, 1990). Différentes sources de stress peuvent induire une diminution de la fonction immunitaire, ce qui pourrait augmenter la sensibilité à l'infection par *M. bovis* (Reid, 1992). Pendant le rut, par exemple, les cerfs sont soumis à un stress considérable (Griffin et Mackintosh, 2000). Il a été également montré que la réponse immunitaire cellulaire de cerfs élaphe sauvages était sévèrement diminuée jusqu'à 35 jours après leur capture (Buchan et Griffin, 1990).

Aucune étude ne fait mention explicite du temps de latence de la maladie (période entre le début de l'infection et le début de la contagiosité). Chez le cerf élaphe, seules l'apparition des réponses immunitaires et de l'excrétion ont été évaluées. Des cerfs élaphe exposés à une population naturellement infectée de possums ont présenté une réponse immunitaire entre un et deux mois après cette exposition (Lugton *et al.*, 1997), un délai qui correspond à celui observé après une infection expérimentale (de Lisle *et al.*, 1983). Le bacille a été isolé à partir d'écouvillonnages des cavités nasale et orale chez deux des six animaux positifs, 5 et 7 mois après l'exposition. Tous les animaux positifs présentaient des lésions macroscopiques neuf mois après l'exposition lors de leur autopsie.

### 1.2.2.2. Transmission

Les résultats des examens post-mortem indiquent très souvent des lésions au niveau de la tête (ganglions lymphatiques rétro-pharyngiens), du thorax (ganglions lymphatiques pulmonaires et médiastinaux et poumons) et de l'abdomen (ganglions lymphatiques mésentériques). La distribution des lésions suggère que, comme c'est le cas chez les bovins, les principales voies d'infection sont le tractus respiratoire et le tractus digestif. La distribution des lésions ne permet cependant pas de déterminer de façon certaine la voie de transmission (respiratoire ou orale) (Palmer et Waters, 2006). Les lésions dans les ganglions lymphatiques rétro-pharyngiens peuvent en effet indiquer l'une ou l'autre voie d'infection (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991).

Il n'y a pas de description de transmission verticale de la tuberculose chez les cervidés alors que l'on présume que, dans des cheptels de bovins fortement contaminés, cinq pour cent des veaux seraient infectés via les vaisseaux ombilicaux. L'infection par l'ingestion de lait à partir de glandes mammaires infectées n'a pas été signalée chez les cervidés. Néanmoins, des faons ont été infectés expérimentalement en les nourrissant avec du lait de vache contaminée (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991).

D'après Griffin, la maladie est le plus souvent transmise de la femelle infectée au faon mais elle peut aussi se transmettre entre des femelles reproductrices ou des femelles aux mâles pendant la période du rut (Griffin et Buchan, 1994).

Les cerfs élaphe placés le plus haut dans la hiérarchie sociale seraient plus exposés à une transmission inter-espèce de la maladie. Cette hypothèse a été évaluée par Sauter et Morris en Nouvelle Zélande qui ont constaté que les animaux dominants étaient infectés plus vite lorsqu'ils étaient exposés à une population naturellement infectée de possums (Sauter et Morris, 1995). Ces animaux présentaient également un comportement plus inquisiteur vis à vis des possums auxquels on a administré un sédatif afin de simuler l'état terminal de la tuberculose. Dans une étude expérimentale Lugton *et al.* ont montré que les amygdales étaient fréquemment infectées ce qui indiquerait que la principale voie de transmission du bacille du possum au cerf serait orale au moment où les cerfs vont examiner les possums mourants (Lugton *et al.*, 1997). L'infection des amygdales suite à l'entrée des bacilles par voie nasale serait en effet peu probable.

Lugton *et al.* (1998) ont montré que l'excrétion de bacilles par des animaux infectés mais sans signes de maladie n'était pas très élevée, alors que chez les animaux atteints sévèrement de la maladie elle était beaucoup plus élevée. Ceci pourrait suggérer que la transmission de la maladie serait due en grande partie aux animaux qui sont dans un état avancé de la maladie.

### **1.2.3. Ecologie du sanglier**

Le sanglier est un mammifère de l'ordre des artiodactyles et de la famille des suidés. Il est l'ancêtre du porc domestique. Il est présent en Eurasie et Afrique du Nord et a été introduit en Amérique, Australie et Nouvelle Zélande (Epstein et Bichard, 1984). La longévité du sanglier est de 8 à 10 ans dans la nature et de 20 à 25 ans en captivité (Vassant, 1995). Chez le mâle, la maturité sexuelle est atteinte vers l'âge de 10 mois. En revanche, chez la laie, elle dépend de son poids (35 à 40 kg) et se situe entre 8 et 24 mois, en fonction des ressources alimentaires (Anonyme, Novembre 2005). La période des naissances s'étend de janvier à septembre avec deux pics. Le premier en avril-mai, correspond à la mise-bas des femelles adultes. Le second moins important, de juillet à septembre, est le fruit des laies sub-adultes, qui sous l'effet de ressources alimentaires très abondantes, ont pu procréer. Après quatre mois de gestation, la femelle s'isole pour mettre bas une portée de 2 à 6 marcassins (selon le poids de la mère) dans un nid (Anonyme, Novembre 2005). L'allaitement dure 2 à 3 mois, mais les jeunes sont aptes à suivre la mère dans ses déplacements dès la fin de leur première semaine. Ils sont capables de subvenir à leur propres besoins vers l'âge de 6 mois, mais demeureront dans le groupe familial encore une ou deux années (Anonyme).

Au même titre que la natalité, la mortalité est un paramètre extrêmement variable d'une population à l'autre. Les données de captures-recaptures qui éclipsent la mortalité juvénile la plus précoce, indiquent un taux annuel de mortalité « moyen » très élevé chez les sangliers du Sud-Ouest de la France (de 55% à 74%) (Pépin, 1985).

Les femelles et les jeunes vivent en compagnies ou hardes de 10 à 20 individus, sous l'autorité d'une laie meneuse. Les mâles quittent le groupe vers l'âge de 15 à 18 mois et deviennent solitaires sauf pendant la période du rut (Anonyme, Novembre 2005). Le rut s'étale d'octobre à février. Lors d'affrontements violents entre mâles, des blessures parfois importantes peuvent être occasionnées.

En dehors des déplacements dus à la chasse, les sangliers dans leur comportement naturel évoluent pour la plupart sur des surfaces très réduites, de 500 à 700 ha en moyenne (Brandt *et al.*, 1998). Seulement 10% des animaux s'éloignent de plus de 15 km de leur lieu de naissance, et environ 5 % à plus de 50-100 km (Vassant, 1995). L'influence de la chasse sur les déplacements est plus importante pour les mâles. Les hardes conservent, malgré la chasse, un comportement très sédentaire. Quelques unes quittent momentanément leur secteur habituel, suite à un dérangement plus important. Le retour sur le domaine initial est systématique (Brandt *et al.*, 1998), cependant les sangliers ne sont pas des animaux territoriaux au sens où ils ne défendent pas un territoire.

Omnivore, le sanglier s'adapte à la disponibilité alimentaire du moment, fonction du milieu et de la saison. Il affectionne tout particulièrement les fruits forestiers (glands, faines, châtaignes, pommes...), mais consomme également racines et tubercules, pousses vertes de graminées et de légumineuses, épis de céréales. A l'occasion, il ne dédaigne pas les cadavres d'animaux, petits rongeurs et oiseaux, les serpents, les lézards, petits invertébrés, les lombrics... (Anonyme, Novembre 2005). Ils peuvent même s'attaquer à un animal mourant de plus grande taille.

## **1.2.4. Infection du sanglier ou du cochon marron par *M.bovis***

### **1.2.4.1. Clinique et pathogénie**

Les sangliers ou cochons marrons seraient très sensibles à l'infection avec *M. bovis*. En Nouvelle-Zélande, des porcs marrons ont été utilisés en tant que « sentinelles » pour détecter la présence de la maladie dans un milieu naturel : 17 cochons marrons ont été libérés dans une zone où l'on savait que la tuberculose était présente (Nugent *et al.*, 2002). Ils ont été recapturés à différents intervalles à partir de deux mois après leur libération et sacrifiés pour être examinés ; *M. bovis* a été isolé chez les 15 animaux récupérés. Ceux qui ont été capturés au début ne présentaient pas ou très peu de lésions au niveau des ganglions lymphatiques mandibulaires. Ceux qui ont été capturés entre 4 et 15 mois après la libération présentaient tous des lésions importantes au niveau des ganglions lymphatiques.

Dans une enquête en Australie, peu de cochons marrons infectés avec *M. bovis* présentaient des lésions généralisées ou au niveau des poumons. La plupart de ces animaux présentaient des petites lésions au niveau des ganglions lymphatiques mandibulaires, ce qui d'après les auteurs pourrait indiquer une infection orale (Corner *et al.*, 1981). En Espagne, des sangliers infectés ont présenté des lésions plus importantes au niveau des poumons (Parra *et al.*, 2003), d'autres organes (Gortazar *et al.*, 2003) ou une forme généralisée de la maladie (Segales *et al.*, 2005).

### **1.2.4.2. Transmission**

Le sanglier, qui est volontiers charognard, peut se contaminer en consommant des carcasses infectées (Morris *et al.*, 1994). En Australie, il est très probable que les cochons marrons se sont contaminés en consommant des carcasses de buffles et de bovins contaminés (Corner *et al.*, 1981). Aux Etats-Unis d'Amérique, des cas de tuberculose à *M. bovis* dans les élevages de porcs domestiques ont été attribués à la consommation de lait de vache ou de produits laitiers contaminés et non-stérilisés ou lors de l'élevage conjoint de porcs et de bovins à partir des excréments contaminés de bovins infectés (Morris *et al.*, 1994).

La maladie peut aussi se transmettre horizontalement de sanglier à sanglier ou du sanglier au porc domestique. Ceci a été mis en évidence en Espagne, dans une région d'où le cerf élaphe est absent et où la maladie semble se maintenir au sein des sangliers sans nécessité d'une

transmission inter-espèce (Parra *et al.*, 2003). Cette possibilité a été aussi évoquée par Wakelin *et al.* en Nouvelle-Zélande (Wakelin et Churchman, 1991).

## **1.2.5. Pourcentage de prévalence de l'infection chez les deux espèces**

### **1.2.5.1. Estimation du pourcentage de prévalence**

L'estimation du pourcentage de prévalence d'une maladie dans une population d'animaux sauvages n'est pas simple à mettre en place principalement pour des raisons d'ordre technique. En effet, le calcul d'une taille d'échantillon repose sur la connaissance de la taille de la population et sur une estimation initiale du pourcentage de prévalence de la maladie. Le plus souvent, ces informations ne sont pas disponibles ou sont peu précises. Par ailleurs, on voit mal comment, en pratique, constituer un échantillon d'une population sauvage en étant sûr de sa représentativité. Pour cette raison, la plupart des études de prévalence reposent sur les tableaux de chasse. Dans le cas de la tuberculose à *M. bovis*, différentes approches ont été utilisées pour estimer la prévalence. Pour déterminer si la maladie circule chez une espèce, on peut soit piéger des animaux et les sacrifier pour les prélever (c'est le cas des études chez les possums ou les blaireaux) soit se baser sur les tableaux de chasse et définir un échantillon d'animaux à prélever. Pour confirmer l'infection chez un animal, il est nécessaire de faire une culture bactérienne à partir des tissus prélevés. Cette méthode diagnostique, qui est la méthode de référence, est considérée comme spécifique à 100%, ce qui n'est pas le cas pour sa sensibilité qui peut par ailleurs varier d'un laboratoire à un autre (Griffin et Buchan, 1994). Les pourcentages de prévalence calculés dans certaines publications sur l'ensemble des animaux d'un échantillon correspondent donc toujours à des pourcentages de prévalence apparents puisqu'aucune information quant à la sensibilité de la culture n'est disponible qui puisse permettre de calculer le pourcentage de prévalence réel.

Une fois qu'il est établi que la maladie circule dans une population et afin de réduire les coûts de laboratoire, le pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* peut être estimé à partir de la seule présence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose sans confirmer l'étiologie de ces lésions par l'isolement de la bactérie et en négligeant les cas où les animaux infectés n'ont pas de lésions visibles. Cette méthode est employée au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) pour suivre l'évolution de la tuberculose à *M. bovis* dans la population de cerfs

de Virginie. Elle ne sous-estimerait que faiblement le pourcentage de prévalence de l'infection (O'Brien *et al.*, 2004).

Dans certaines études seuls les animaux présentant des lésions macroscopiques évoquant une tuberculose font l'objet d'une mise en culture. Le résultat obtenu ne correspond pas au pourcentage de prévalence de l'infection dans la population étudiée puisque les animaux qui sont infectés et qui ne présentent pas des lésions macroscopiques ne sont pas inclus dans le calcul. Dans les tableaux qui sont présentés ci-dessous :

- le pourcentage de prévalence des lésions macroscopiques est donné à titre indicatif,
- le pourcentage de prévalence fait référence au pourcentage de prévalence apparent de l'infection à *M. bovis* et
- les résultats des études faites à partir de l'examen d'animaux à lésions macroscopiques sont présentés en tant que pourcentages d'animaux donnant un résultat positif pour *M. bovis* parmi le nombre total d'animaux présentant des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose.

#### **1.2.5.2. Pourcentage de prévalence chez les cerfs**

La tuberculose causée par *M. bovis* a été enregistrée chez toutes les espèces de cervidés étudiées jusqu'à présent (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991). La découverte de l'infection dans les populations de cervidés sauvages a en général lieu à la faveur d'enquêtes épidémiologiques menées suite au diagnostic de tuberculose dans des élevages voisins de bétail ou de cerfs captifs. Différentes études ont permis d'évaluer le pourcentage de prévalence de la maladie dans les populations de cerfs élaphe sauvages (Tableau II). Les méthodes d'échantillonnage diffèrent d'une étude à l'autre.

En Nouvelle Zélande, on considère que les possums infectés sont la source principale d'infection des cerfs élaphe, ce qui semble être soutenu par le fait que les niveaux d'infection chez les cerfs ont diminué dans les zones où la population de possums a été réduite par abattage (Nugent, 2004). Même s'ils ne sont pas considérés comme un réservoir de *M. bovis*, ils pourraient jouer un rôle dans sa diffusion puisque les cerfs élaphe sauvages infectés qui migrent pourraient être responsables de l'introduction de la tuberculose dans des nouvelles zones (Morris et Pfeiffer, 1995). La transmission de cerf à cerf semblerait se produire très

rarement et serait un phénomène lié à la densité de la population des cerfs, le seuil nécessaire au maintien de la maladie n'ayant pas été atteint en Nouvelle-Zélande (Lugton *et al.*, 1998; Nugent, 2004). Dans une étude de prévalence, Lugton *et al.* n'ont trouvé qu'un seul animal de moins d'un an infecté parmi 18 examinés (Lugton *et al.*, 1998) et ont constaté une augmentation du pourcentage de prévalence avec l'âge des cerfs. Dans cette étude le pourcentage de prévalence chez les cerfs a été de 32% dans une zone où la maladie est endémique chez les possums. Dans une zone où la mycobactérie n'est pas présente chez les possums, le pourcentage de prévalence de la tuberculose chez les cerfs était beaucoup plus faible (2,9%) (Nugent, 1996).

En Espagne, *M. bovis* a été isolé chez des cerfs élaphe dans le centre et sud du pays où des populations importantes de cette espèce sont concentrées (Aranaz *et al.*, 2004; Gortazar *et al.*, 2005; Hermoso de Mendoza *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2005). D'après les tableaux de chasse de 1997 à 2002 le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose chez le cerf élaphe était de 1,18% dans la région d'Estrémadure (Parra *et al.*, 2005). Seul un échantillon de carcasses présentant des lésions macroscopiques a été prélevé pour réaliser la culture et 94% de celles-ci ont donné des résultats positifs. En considérant seulement les animaux qui présentaient des lésions macroscopiques évocatrices de la tuberculose, Vicente *et al.* ont estimé le pourcentage de prévalence de la tuberculose entre 0% et 50% selon la région (Vicente *et al.*, 2006).

En France, bien que plusieurs cas avaient été observés dans des élevages de cervidés, aucun foyer de tuberculose n'avait été décrit jusqu'en 2001 dans la faune sauvage en liberté. C'est à la suite de la découverte fortuite en 2001 d'un cerf élaphe adulte, d'un faon, et d'une biche avec des lésions abcédées pulmonaires et/ou hépatiques dans la forêt de Brotonne (Seine-Maritime) que l'enquête épidémiologique a mis en évidence la présence de *M. bovis* chez les cerfs élaphe sauvages français (Hars, 2002). Entre 2003 et 2006, *M. bovis* a été isolé chez un cerf élaphe en Bourgogne sur 305 animaux prélevés (Hars *et al.*, 2006).

Dans le sud-ouest de l'Angleterre, où la maladie est enzootique chez le blaireau, une enquête réalisée pour déterminer si la maladie était présente chez d'autres espèces sauvages a permis d'établir un pourcentage de prévalence de 1% chez les cerfs élaphe (Delahay *et al.*, 2006). Tous les animaux collectés, présentant ou pas des lésions macroscopiques, ont fait l'objet d'une recherche de *M. bovis*.

En Irlande, où la maladie est également enzootique chez le blaireau, le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques chez les cerfs élaphe d'un parc national a été estimée à 3,5% (Quigley *et al.*, 1997). Parmi les 12 animaux présentant des lésions macroscopiques, 9 (75%) ont donné des résultats positifs pour *M. bovis*.

Au Canada, dans le Parc national Riding Mountain (Manitoba), où un foyer de la maladie a été détecté depuis 1992 chez les cerfs élaphe et les bisons, le pourcentage de prévalence chez les cerfs est situé dans une fourchette de 1% à 2,9% selon l'endroit du parc où les animaux ont fait l'objet de prélèvements (Lees *et al.*, 2003).

**Tableau II. Pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* dans les populations sauvages de cerfs élaphe**

Pays	P (lésions) <sup>a</sup> [IC] <sup>d</sup>	P (infection) <sup>b</sup> [IC] <sup>d</sup>	P(infection/lésions) <sup>c</sup>	Remarques	Références
Angleterre	3% (1,13%-6,64%)	1,02 (0,12%-3,64%)	-	Tableau de chasse	(Delahay <i>et al.</i> , 2006)
Canada	-	1% à 2,9% selon le site	-	Sites d'un parc national (1992 à 2002)	(Lees <i>et al.</i> , 2003)
Espagne	1,18% (1,08% - 1,28%)	-	94%	Tableaux de chasse d'une région (1997 à 2002)	(Parra <i>et al.</i> , 2005)
Espagne	De 0 % à 50% selon la région	-	-	Tableaux de chasse de différentes régions (1999 à 2004)	(Vicente <i>et al.</i> , 2006)
Irlande	3,5% (1,8%-6%)	-	75% (9/12)	Parc national	(Quigley <i>et al.</i> , 1997)
Nouvelle-Zélande	-	2,9% (0,07%-15,3%)	-	Site où la tuberculose n'a pas été détectée chez les possums	(Nugent, 1996)
Nouvelle-Zélande	-	32% (23%-41,8%)	-	Deux sites où la tuberculose est endémique chez les possums (1993 à 1995)	(Lugton <i>et al.</i> , 1998)

<sup>a</sup> Pourcentage de prévalence selon la présence de lésions macroscopiques

<sup>b</sup> Pourcentage de prévalence de *M. bovis*

<sup>c</sup> Pourcentage d'animaux positifs à *M. bovis* parmi ceux présentant des lésions macroscopiques

<sup>d</sup> Intervalle de confiance à 95%

### 1.2.5.3. Pourcentage de prévalence chez les sangliers

Des cas de tuberculose à *M. bovis* ont été signalés dans plusieurs pays chez les sangliers ou chez les cochons marrons (cochons domestiques devenus sauvages). Son pourcentage de prévalence a pu être estimé dans certains de ces pays (Tableau III).

En Australie, l'infection par *M. bovis* des cochons marrons a été attribuée à une transmission à partir de buffles et de bovins contaminés (Corner *et al.*, 1981). Le pourcentage de prévalence des lésions macroscopiques a été évalué à 47,7% et celui de l'infection à 19,2% chez les cochons marrons dans une région où des buffles et des bovins infectés étaient présents. Après la mise en place de la campagne d'éradication de la maladie chez ces deux dernières espèces, le pourcentage de prévalence des lésions macroscopiques chez les cochons a diminué à 6,2% dans cette même région (McInerney *et al.*, 1995). *M. bovis* a été isolé chez deux animaux (4%) parmi les 49 qui présentaient des lésions macroscopiques

En Espagne, l'infection est présente dans les populations de sangliers sauvages dans le centre et le sud du pays où les cerfs élaphe sont aussi contaminés (Parra *et al.*, 2003; Aranaz *et al.*, 2004; Gortazar *et al.*, 2005; Hermoso de Mendoza *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2005; Parra *et al.*, 2005). Elle est aussi présente chez le sanglier dans une zone d'élevage de porcs domestiques où le cerf élaphe est absent (Parra *et al.*, 2003). D'après un échantillon d'animaux chassés entre 1997 et 2002, le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques de type tuberculeux chez le sanglier a été de 1,8% dans la région d'Estrémadure (Parra *et al.*, 2005). Le pourcentage de lésions macroscopiques allait de 28,6% à 100% dans différentes régions du pays (Vicente *et al.*, 2006).

En France, des sangliers porteurs de *M. bovis* ont été décrits pour la première fois en 2001 en forêt de Brotonne (Seine Maritime et Eure) (Hars *et al.*, 2004). En 2003, *M. bovis* a été isolé chez cinq sangliers en Haute-Corse (100 animaux prélevés). Entre 2003 et 2006, la bactérie a aussi été isolée chez deux sangliers sur 108 prélevés en Côte d'Or.

**Tableau III. Pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* dans les populations sauvages de cochons marrons et de sangliers**

Pays	P. (lésions) <sup>a</sup> [IC] <sup>d</sup>	P. (infection) <sup>b</sup> [IC] <sup>d</sup>	P. (infection/lésions) <sup>c</sup>	Remarques	Références
Australie (Cochon marron)	47,7% (44%-51,3%)	19,2% (13,8%-25,4%)	-	Une région (années 70)	(Corner <i>et al.</i> , 1981)
Australie (Cochon marron)	6,2% (4,6%-8,1%)	-	4%	Une région (début années 90) <sup>e</sup>	(McInerney <i>et al.</i> , 1995)
Espagne (Sanglier)	1,8% (1,7%-1,95%)	-	92%	Tableaux de chasse d'une région (1997 à 2002)	(Parra <i>et al.</i> , 2005)
Espagne (Sanglier)	De 28,6 % à 100% selon la région	-	-	Tableaux de chasse de différentes régions (1999 à 2004)	(Vicente <i>et al.</i> , 2006)
Italie (Sanglier)	-	-	23,8%	Tableaux de chasse d'une région (1993 à 1995)	(Serraino <i>et al.</i> , 1999)
Italie (Sanglier)	11,5% (10,2%-11,7%)	-	43,6%	Une région (1995 à 1996) <sup>e</sup>	(Bollo <i>et al.</i> , 2000)
Nouvelle-Zélande (Cochon marron)	33,9% (28%-40%)	-	39%	Région où la tuberculose est endémique chez les possums (1989-1990)	(Wakelin et Churchman, 1991)
Nouvelle-Zélande (Cochon marron)	40,5% (24,7%-57,9%)	54% (36,9%-70,5%)	87%	Région où la tuberculose est endémique chez les possums (2000 à 2001)	(Nugent <i>et al.</i> , 2002)

<sup>a</sup> Pourcentage de prévalence selon la présence de lésions macroscopiques

<sup>b</sup> Pourcentage de prévalence de *M. bovis*

<sup>c</sup> Pourcentage d'animaux positifs à *M. bovis* parmi ceux présentant des lésions macroscopiques

<sup>d</sup> Intervalle de confiance à 95%

<sup>e</sup> Même région que la précédente

En Italie, *M. bovis* a été isolé chez 15 des 63 sangliers qui présentaient des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose à *M. bovis* et qui avaient été chassés de 1993 à 1995 dans la région de Ligurie (Serraino *et al.*, 1999). Dans la même région des lésions macroscopiques ont été constatées chez 11,5 % des animaux inspectés pendant la saison de chasse 1995/96. *M. bovis* a été isolé sur 112 animaux d'un échantillon de 257 animaux présentant des lésions (Bollo *et al.*, 2000).

En Nouvelle-Zélande, la maladie est aussi présente dans les populations de cochons marrons dans certaines régions du pays où la maladie est enzootique chez les possums (Wakelin et Churchman, 1991; de Lisle, 1994; Nugent *et al.*, 2002). Dans une enquête de prévalence chez cette espèce dans une de ces régions, selon les résultats d'histopathologie, aucune différence n'a été constatée selon le sexe et les animaux plus âgés étaient plus souvent contaminés (Wakelin et Churchman, 1991). Le pourcentage d'animaux infectés, confirmés par culture, parmi ceux qui présentaient des lésions macroscopiques a été de 39%. Dans une autre enquête, Nugent *et al.* ont trouvé que le pourcentage de prévalence de l'infection était très élevé (54%) et que des animaux très jeunes, de 1 à 2 mois, pouvaient également être contaminés (Nugent *et al.*, 2002).

Dans l'île hawaïenne de Molokai, *M. bovis* a été isolé chez 9 des 61 cochons marrons abattus dans une propriété où la maladie avait été confirmée dans un troupeau de bovins à viande (O'Reilly et Daborn, 1995). Ils ont aussi été impliqués dans la transmission de la tuberculose à la population locale de cervidés (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991).

La présence de *M. bovis* chez les sangliers a aussi été signalée en Croatie, Hongrie et Slovaquie (Machackova *et al.*, 2003).

Dans le sud-ouest de l'Angleterre, où la maladie est enzootique chez le blaireau, lors d'une enquête pour déterminer si la maladie était présente chez d'autres espèces sauvages, les sangliers marrons (sangliers d'élevage devenus sauvages) prélevés n'ont pas donné des résultats positifs pour *M. bovis* (Delahay *et al.*, 2006). Ce type d'étude n'a pas encore été conduit en Irlande, où la maladie est également enzootique chez les blaireaux.

#### 1.2.5.4. Conclusions

Les différentes méthodes utilisées pour estimer le pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* chez les cerfs élaphe sauvages et les sangliers ou cochons marrons font que les valeurs obtenues ne sont pas facilement comparables. Pour une seule étude il a été possible d'obtenir en même temps les pourcentages de prévalence de lésions macroscopiques, le pourcentage de prévalence de l'infection et le pourcentage d'animaux infectés parmi ceux qui présentaient des lésions macroscopiques. On remarque que dans les pays où d'autres espèces (buffle, possum) sont le réservoir principal de la maladie, telle que l'Australie ou la Nouvelle Zélande, des pourcentages de prévalence élevés de lésions macroscopiques ou de l'infection ont été enregistrées chez les cerfs élaphe ou les cochons marrons lorsqu'une espèce considérée réservoir de la maladie est présente. Une exception à cette observation doit être notée avec les estimations faibles obtenues au sud-ouest de l'Angleterre et en Irlande chez le cerf élaphe alors que la maladie est enzootique chez les blaireaux.

D'après la présence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose, c'est en Espagne que les valeurs les plus élevées des taux de prévalence ont été obtenues chez le cerf élaphe (50%) et le sanglier (100%), mais ces estimations ont été faites à partir d'un nombre d'animaux examinés faible (16 pour les cerfs élaphe, 14 pour les sangliers) (Vicente *et al.*, 2006). Il faut souligner que dans ce pays, ces deux espèces constituent le seul réservoir connu de la maladie dans la faune sauvage. En Australie, le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques chez les cochons marrons était élevé (47,7%) dans une région où les buffles et les bovins étaient infectés (Corner *et al.*, 1981). Vingt ans après le début de la campagne d'éradication chez ces deux espèces il est tombé à 6,2% (McInerney *et al.*, 1995). En Nouvelle Zélande, le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques chez les cochons marrons est également élevé dans les régions où la tuberculose est enzootique chez les possums (Wakelin et Churchman, 1991; Nugent *et al.*, 2002).

En ce qui concerne le taux de prévalence de l'infection en Nouvelle Zélande, la valeur observée chez les cerfs élaphe est élevée dans les zones où la tuberculose est enzootique chez les possums (32%) (Lugton *et al.*, 1998) par rapport à une zone où elle ne l'est pas (2,9%) (Nugent, 1996). Le pourcentage de prévalence est également élevé dans ce pays chez les cochons marrons dans une région où des possums infectés sont présents (Nugent *et al.*, 2002). Dans cette dernière étude il faut remarquer que le pourcentage de prévalence de l'infection

était supérieur au pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques, ce qui indique que des animaux qui ne présentaient pas des lésions typiques de tuberculose étaient porteurs de la bactérie, comme cela a déjà été décrit dans la littérature (Griffin et Buchan, 1994).

Dans les études où la culture cellulaire a été effectuée à partir des organes présentant des lésions macroscopiques, le pourcentage d'isolement de *M. bovis* était élevé chez les cerfs élaphe (94% en Espagne, 75% en Irlande) (Quigley *et al.*, 1997; Parra *et al.*, 2005) et chez les sangliers en Espagne (94%) (Parra *et al.*, 2005). Ce pourcentage était élevé (87%) (Nugent *et al.*, 2002) ou modéré (39%) (Wakelin et Churchman, 1991) chez les cochons marrons en Nouvelle Zélande et faible chez cette même espèce en Australie (4%) (McInerney *et al.*, 1995). Dans ces deux dernières études la présence de mycobactéries atypiques aurait pu expliquer l'existence de lésions macroscopiques ne pouvant pas être attribuée à *M. bovis* mais d'après les auteurs, qui ne donnent pas de chiffres, le nombre isolé de ces mycobactéries était négligeable ; d'autres explications n'ont pas été avancées.

## **MODELISATION DE LA TUBERCULOSE A *M. BOVIS***

## 1.3. Modélisation de la tuberculose à *M. bovis*

### 1.3.1. Généralités

Du fait de son impact économique, la tuberculose à *M. bovis* est une maladie qui a été souvent modélisée dans une perspective de contrôle en considérant différentes mesures et en comparant différents scénarios. Avant de décrire les modèles qui ont été élaborés, il convient de s'arrêter sur le concept de modèle.

Un modèle est une construction simplifiée visant à reproduire un processus afin d'en dégager des informations peu accessibles, par l'observation ou l'expérimentation, dans la réalité. Par définition un modèle est toujours inexact parce qu'il n'est qu'une représentation de la réalité. Le modèle est cependant un outil élaboré permettant l'accès à des connaissances masquées par la complexité de cette réalité biologique. Un bon modèle devrait inclure tous les paramètres importants, exclure les paramètres superflus et être présenté d'une manière claire (Smith, 2001). D'après Smith (2001), les modèles des systèmes biologiques sont inclus dans trois grandes catégories : les modèles statistiques, les modèles mathématiques simples et les modèles de simulation complexes. Les modèles statistiques s'intéressent à déterminer les paramètres du système biologique tandis que les modèles mathématiques et les modèles de simulation s'intéressent à la description d'un système pour pouvoir faire des prédictions. Selon les méthodes utilisées, on peut considérer différents « types » de modèles. On peut les classer en fonction des critères suivants :

- déterministe/stochastique
- entités : individus, sous-populations
- temps discret ou continu
- prise en compte de l'espace

Un modèle déterministe utilise un jeu de paramètres avec des valeurs fixes ce qui signifie que le résultat est le même à chaque fois que le modèle est lancé. En revanche, un modèle stochastique inclut un aléa, ce qui peut se faire en considérant la variance des paramètres ou en sélectionnant des événements par un tirage de nombres aléatoires (simulations de Monte Carlo). Chaque réalisation du modèle donnera un résultat différent. Un modèle stochastique est en général moins simplificateur et permet d'inclure une variabilité biologique, ce qui est

séduisant pour un biologiste. Inversement d'un point de vue mathématique, il est plus difficile à gérer. D'après Renshaw (Renshaw, 1991), les deux méthodes sont complémentaires. Un modèle déterministe peut aider à comprendre comment fonctionne un système, à condition que les populations soient importantes. Si les populations sont petites il est important de passer par un modèle stochastique.

Décrire un phénomène, c'est souvent décrire une population dans un certain nombre de dimensions (temps, espace). La population est décrite soit individu par individu (modèles à entités discrètes) ou par blocs de sous-populations. On parle de modèles individus centrés dans le premier cas, de modèles de méta-population dans le deuxième. Le temps peut être considéré comme continu (divisible à l'infini) ou comme discret (avec un pas de temps déterminé) ce qui induit des descriptions mathématiques différentes. La même distinction est faite pour la dimension spatiale quand elle est introduite. En général, les modèles individus centrés et de méta-population incluent une composante spatiale.

Les modèles simples, tels que les modèles à équations différentielles, peuvent parfois être résolus analytiquement. Ils peuvent également être résolus numériquement, par simulation, sans passer nécessairement par la résolution analytique. Un modèle de simulation complexe, du type individu centré, est difficilement gérable analytiquement ; une résolution par simulation sera nécessaire. Inversement, les modèles de type individu centré sont plutôt mécanistes et sont bâtis spécifiquement pour le système qui est étudié : ils n'ont pas vocation à être généralisés.

Les modèles mathématiques sont souvent utilisés pour faire des prédictions sur les systèmes modélisés. Dans la majorité des cas, il n'est pas possible de construire des modèles dont chacun des éléments soit basé sur des preuves expérimentales (Wood et Thomas, 1990). Quand un modèle est évalué, une pratique fréquente est de réaliser une analyse de sensibilité. L'analyse de sensibilité consiste à quantifier l'influence de la variabilité d'un paramètre du modèle sur celle du résultat. Une analyse de sensibilité peut aider à identifier des caractéristiques clé du modèle, les effets de l'incertitude, des détails non nécessaires dans le modèle et des aspects importants pour lesquels il faudra collecter de nouvelles données dans le futur (Seaholm *et al.*, 1988). Les études de sensibilité sont également utilisées pour prédire des résultats pour un ensemble de paramètres qui n'a pas été utilisé comme entrée lors d'une simulation et les modifications des paramètres qui vont entraîner des résultats optimaux. Ces

analyses sont d'autant plus importantes que le modèle est plus complexe et que des questions sur la validité, l'interprétation et l'utilité du modèle se posent. L'analyse de sensibilité est difficile si le modèle a beaucoup de paramètres. Un modèle peut être sensible, par exemple, à des changements d'un paramètre si la valeur attribuée à un deuxième paramètre est la plus élevée parmi les valeurs possibles. Il peut être insensible à des changements du premier paramètre si la valeur du deuxième paramètre est la plus faible possible. Pour cinq ou plus paramètres, le nombre de combinaisons augmente et la difficulté de l'analyse de sensibilité aussi. La sensibilité des modèles à équations différentielles est analysée parfois en déterminant les dérivées partielles du résultat par rapport aux paramètres d'entrée. Il n'existe pas de procédure générale pour tester la sensibilité d'un modèle de simulation (Shirley *et al.*, 2003). D'après Swartzman et Kaluzny (Swartzman et Kaluzny, 1987), cités par Shirley *et al.* (Shirley *et al.*, 2003), une bonne méthode pour examiner la sensibilité d'un modèle de simulation doit remplir les critères suivants : 1) être définie clairement en précisant le nombre de « runs » requis, 2) considérer les effets d'interaction entre les paramètres, 3) inclure l'information sur la variabilité associée à l'estimation des paramètres et 4) permettre une interprétation des résultats pour plusieurs variables. Les techniques de l'échantillonnage d'hypercube latin et d'analyse de corrélation partielle entre paramètres ont été utilisées pour faire des analyses de sensibilité de modèles individu-centré ou de modèles de simulation de Monte Carlo (Seaholm *et al.*, 1988; Shirley *et al.*, 2003).

### 1.3.2. Nomenclature utilisée dans les modèles épidémiologiques

Un animal peut se trouver dans différents compartiments selon l'état de la maladie dans lequel il se trouve. Ils sont dénommés la plupart du temps comme étant sensibles (S), infectés non excréteurs (E, de l'anglais *exposed*), infectés excréteurs (I, de l'anglais *infected*) et immunisés (R, de l'anglais *recovered*). En considérant cette terminologie on parle aussi de modèles « compartimentaux ».

Dans les formalisations employées dans le cas des modèles déterministes en temps continu, les termes d'interaction entre le nombre d'individus sensibles (S) et infectés excréteurs (I) qui modélisent la transmission directe d'un agent pathogène sont représentés par une fonction de transmission  $f_{(S \rightarrow I)}$  qui prend la forme suivante :

$$f_{(S \rightarrow I)} = S\lambda \quad (1)$$

Le nombre de contaminations incidentes par unité de temps dépend donc du nombre de sensibles ( $S$ ) et de ce que l'on appelle communément la force d'infection ( $\lambda$ ) (Begon *et al.*, 2002). D'une façon générale,  $\lambda$  est modélisé comme le produit de trois termes :  $\lambda = cpv$ , où (i)  $c$  est le taux de contact d'un individu sensible avec d'autres individus, (ii)  $p$  correspond à la probabilité que ce contact se fasse avec un individu infectieux et (iii)  $v$  représente la probabilité de succès de la transmission.

En règle générale,  $v$  est supposée constante pour une combinaison hôte-agent pathogène donnée ; et  $p$  (prévalence) est estimée par le rapport  $I/N$ ,  $N$  étant le nombre total d'individus :  $\lambda = cvI/N$ .

En ce qui concerne le taux de contact  $c$ , les deux approches les plus couramment rencontrées dans la littérature sont les suivantes :

- On considère que le taux de contact augmente linéairement avec la densité de population, soit  $c = \kappa N/A$ ,  $A$  correspondant à l'aire occupée par la population étudiée. Le produit  $\kappa v = \beta$  est dénommé « coefficient de transmission ». On obtient :  $\lambda = \beta I/A$  et l'équation (1) devient:

$$f_{(S \rightarrow I)} = \beta S \frac{I}{A} \quad (2)$$

Si l'on considère que l'aire occupée par les individus est constante ceci revient à une formule du type  $\beta SI$ .

- Une autre possibilité est de considérer le taux de contact constant et donc indépendant de la densité de population. Si  $\beta' = cv$ , l'équation (1) devient alors :

$$f_{(S \rightarrow I)} = \beta' S \frac{I}{N} \quad (3)$$

Les équations (2) et (3) représentent respectivement les fonctions de transmission densité-dépendante et fréquence-dépendante.  $\beta$  et  $\beta'$  mesurent respectivement le taux de contact entre les individus d'une population et la probabilité d'infection comme résultat de ce contact.  $\beta'$ , qui est aussi un coefficient de transmission, a des unités différentes de celle de  $\beta$ .

En ce qui concerne la transmission on parle également de mélange homogène (*homogeneous mixing*) – rencontre aléatoire entre les individus d'une population – et de mélange hétérogène (*heterogeneous mixing*)- dans le sens où il existe différentes classes d'individus dans une population selon le type de contact (par exemple, les individus jeunes sont statiques, les adultes se déplacent librement). Un rapprochement avait été fait entre la transmission densité dépendante avec le mélange homogène et la transmission fréquence-dépendante avec un certain type d'hétérogénéité : par exemple dans les modèles de diffusion de maladies sexuellement transmissibles, le taux de contact dépend plus du mode d'accouplement des espèces que de la densité de la population (McCallum *et al.*, 2001). D'après Begon *et al* la correspondance entre ces termes n'est pas si automatique (Begon *et al.*, 2002). En effet, si le mélange est hétérogène il n'y a pas un terme unique qui puisse capturer ce fait ; des termes séparés sont nécessaires pour modéliser la transmission à l'intérieur des classes et entre les classes. Inversement, l'homogénéité peut se produire non seulement du fait qu'un individu a les mêmes chances d'entrer en contact avec un autre dans une population mais aussi quand tous les individus ont des 'structures' équivalentes de contact, taux inclus ; c'est à dire que dans un sens statistique, le système est uniforme. Dans ce cas, les structures de contact peuvent être hétérogènes (interactions locales) sans détruire l'homogénéité du processus de contact. Selon ce point de vue, le taux de contact per capita total peut donc augmenter avec la densité (dans le cas de la densité-dépendance) ou rester constant (dans le cas de fréquence-dépendance) et les deux peuvent se combiner à des structures de contact homogènes ou hétérogènes. La transmission fréquence-dépendante est souvent associée aux animaux territoriaux qui font un nombre fixe de contacts avec les voisins, indépendant de la densité de la population (Smith, 2001). Begon *et al* (Begon *et al.*, 2002) examinent ce dernier concept et considèrent que la transmission est densité-dépendante si le nombre de contacts au cours de luttes avec les voisins est proportionnel à la densité globale. En revanche, elle est fréquence-dépendante si la taille du territoire change avec la densité de façon à que le nombre de voisins soit toujours le même. En considérant le contact au sein d'une famille, la transmission sera densité-dépendante si la taille de la famille est proportionnelle à la densité globale. Si sa taille est la même quelque soit la densité, la transmission sera fréquence-dépendante (Begon *et al.*, 2002).

En ce qui concerne la transmission de la tuberculose à *M. bovis*, d'autres formes de la fonction de transmission (Barlow, 1996; Barlow, 2000) ont été proposées par certains auteurs ainsi que des relations non-linéaires entre le taux de contact et la densité de population

(Roberts, 1996; Kao et Roberts, 1999; Barlow, 2000). Elles seront détaillées dans les paragraphes qui suivent.

Un concept important en épidémiologie est le nombre de reproduction de base, dénommé  $R_0$ . Il représente une certaine quantité « seuil » qui détermine si une maladie va persister ou si elle va s'éteindre. Il est par définition le nombre de cas secondaires d'infection générés par un premier hôte infecté quand il est introduit dans une population complètement sensible. Si  $R_0 > 1$ , la maladie va persister, si  $R_0 < 1$ , la maladie va s'éteindre. Cette quantité peut s'exprimer aussi en fonction de la densité de population dans le cas d'une fonction de transmission densité-dépendante et dans ce cas on parlera d'une densité de population critique ou d'un seuil de densité (Heesterbeek, 2002). Il est facile d'obtenir une formule pour  $R_0$  à partir des paramètres d'un modèle simple, à mélange homogène des individus, tandis qu'il est plus difficile de l'évaluer pour les modèles plus complexes telles que les modèles de métapopulation, qui incluent une composante spatiale ou les modèles de simulation. Des modèles spatiaux montrent que  $R_0 > 1$  est une condition nécessaire mais pas suffisante pour entraîner une épidémie (Smith, 2001). En effet, la structure spatiale des individus sensibles peut être telle que la probabilité de propagation spatiale s'approche de zéro à mesure que l'onde épidémique se propage dans l'espace. Ceci peut se produire à cause de la structure de l'habitat ou par la mise en place de mesures de contrôle telle que la vaccination en anneau.

Dans la section suivante nous allons passer en revue les modèles publiés sur la tuberculose à *M. bovis* chez les espèces sauvages en décrivant leur structure et les conclusions tirées par les auteurs.

### **1.3.3. Modèles de tuberculose à *M. bovis***

Les modèles développés pour évaluer la tuberculose à *M. bovis* chez les blaireaux et les possums sont les plus nombreux et les plus anciens. Les premières publications datent des années 80. Un seul modèle a été publié pour étudier la maladie chez des cervidés sauvages et un chez des cervidés d'élevage.

### 1.3.3.1. Blaireaux

Dans les zones des Iles Britanniques où la maladie est prévalente, les populations de blaireaux sont constituées de groupes sociaux qui habitent dans des terriers et qui occupent des territoires exclusifs. Le comportement territorial et la structure sociale des blaireaux ont des implications importantes dans la transmission de la tuberculose à *M. bovis* (Shirley *et al.*, 2003). Il a même été suggéré que la perturbation spatiale des groupes sociaux lors des opérations d'abattage pour réduire l'incidence de la tuberculose dans les élevages bovins peut faciliter la transmission de la maladie entre les groupes (Tuytens *et al.*, 2000).

Anderson et Trewhella ont utilisé des équations différentielles pour développer un modèle simple du type SEI qui prenait en compte la transmission pseudo-verticale de la tuberculose et la possibilité de retourner de l'état infecté excréteur à l'état infecté non excréteur (Anderson et Trewhella, 1985). Ces auteurs se sont attachés à modéliser de façon détaillée la dynamique des populations des blaireaux et certains aspects de la transmission de la tuberculose chez cette espèce. Ces informations, ainsi que les valeurs des paramètres utilisés ont été reprises postérieurement par d'autres auteurs. Bentil et Murray ont repris le modèle d' Anderson et Trewhella et ont inclus un état immunisé (Bentil et J.D., 1993). Ils ont déterminé numériquement les valeurs des paramètres des équations qui puissent s'adapter aux données du terrain d'une façon optimale. Ces deux modèles ont été construits sur la base d'une transmission densité-dépendante et prédisaient que la transmission pseudo-verticale jouait un rôle important dans le maintien de la tuberculose dans la population et que la maladie était responsable d'une réduction importante des effectifs de la population. Ils ont été critiqués par la suite car les observations de terrain n'allaient pas dans le sens de ces conclusions et l'existence d'un état immunisé est peu probable (Cheeseman *et al.*, 1988; Smith *et al.*, 1995).

Le modèle de Bentil et Murray a été utilisé par Ruxton pour explorer l'effet de la saisonnalité (taux de naissance, de mortalité et de contact variables selon la saison de l'année) afin de vérifier s'il pouvait s'adapter mieux aux données existantes (Ruxton, 1996). Ce modèle a montré que l'introduction de la saisonnalité, en utilisant des fonctions périodiques pour les taux de naissance, de mortalité et de contact, n'induisait pas les oscillations observées de la prévalence de la maladie. Ruxton a critiqué l'hypothèse de départ de mélange homogène des individus utilisée dans ce type de modèle et a suggéré que la prise en compte d'une

composante spatiale qui tienne compte de la territorialité des blaireaux pourrait mieux reproduire les données du terrain.

Par la suite, Barlow a repris le modèle simple de type SEI pour l'appliquer à un certain nombre de maladies, dont la tuberculose chez les blaireaux (Barlow, 1996). Ce modèle incluait soit une mortalité densité-dépendante, soit une naissance densité-dépendante ou les deux. Il examinait une fonction de transmission densité-dépendante et une relation non-linéaire entre le taux de contact et la densité et utilisait les paramètres proposées par Anderson et Trewhella (Anderson et Trewhella, 1985). La fonction de transmission était de la forme suivante :

$$f_{(S \rightarrow I)} = \beta I \left( N - \frac{E + I}{q} \right) \quad (4)$$

avec  $E+I < qN$ ,  $q$  étant un paramètre d'agrégation. Les valeurs de  $q > 1$  modélisent une agrégation de la maladie. Si  $q = 1$ , la fonction devient densité-dépendante (équation (1)). Le paramètre  $q$  modélise une diminution du nombre d'individus sensibles potentiels en raison d'hétérogénéités, notamment spatiales. En prenant en compte toutes ces hypothèses, le modèle prédisait que l'abattage était plus effectif que la vaccination pour le contrôle de la maladie chez les blaireaux.

Une autre révision du modèle d'Anderson et Trewhella (Anderson et Trewhella, 1985) a été faite, qui considérait une naissance saisonnière et le contrôle de la fertilité. Elle comparait la transmission densité-dépendante, la transmission fréquence-dépendante et l'augmentation de la transmission comme résultat d'une perturbation sociale (Swinton *et al.*, 1997). Le contrôle de la fertilité était aussi effectif que l'abattage mais prenait plus de temps. Le modèle indiquait que des faibles diminutions de la taille de la population peuvent donner comme résultat une importante diminution de la prévalence, mais que si l'abattage entraînait une perturbation sociale et en conséquence une augmentation du taux de contact, l'efficacité des deux mesures de contrôle était moins claire.

White et Harris ont produit un modèle de simulation spatiale qui tenait compte de la dynamique des populations de blaireaux et de la tuberculose (White et Harris, 1995). L'espace était discrétisé selon une maille carrée et à l'intérieur de chaque maille la taille du

groupe social était homogène. Le nombre de naissances était une fonction du nombre de femelles du groupe social et non pas le résultat de la probabilité qu'une femelle donne naissance. La mortalité des petits était densité-dépendante. La combinaison de différentes valeurs des probabilités de transmission intra et inter-groupe permettait de reproduire la propagation et la prévalence observées sur le terrain. Ce modèle, au lieu de prédire un seuil critique de densité de la population pour la persistance de la maladie (comme dans les modèles précédents), considérait une taille de groupe sociale minimale de six adultes et jeunes pour la persistance de la maladie.

Ce même modèle a été utilisé pour examiner les possibles options de contrôle. Parmi les méthodes utilisées au Royaume Uni pour abattre les blaireaux, le modèle suggérait que le gazage (la surface gazée dépend de la localisation de l'élevage infecté, du nombre de groupes sociaux infectés et des limites naturelles) et la stratégie de « nettoyage en anneau » (abattage des groupes sociaux infectés et des groupes sociaux voisins) étaient les plus efficaces. Pour éradiquer la maladie de la population il était nécessaire de mettre en œuvre un abattage intensif ou des vaccinations d'efficacité modérée à élevée, répétées. Même avec une efficacité de vaccination de 60 à 80%, les résultats n'étaient pas différents du gazage.

Le même modèle a été utilisé pour examiner le contrôle de la fertilité (White *et al.*, 1997). Les résultats montrent qu'en utilisant uniquement cette mesure de contrôle, la tuberculose ne serait pas éradiquée et que de plus elle pourrait entraîner l'extinction de l'espèce. Cependant, la combinaison du contrôle de la fertilité avec l'abattage pourrait donner des bons résultats.

Smith *et al.* ont exploré différentes structures de modèles à partir d'un modèle de simulation individu-centré à petite échelle spatiale (Smith *et al.*, 1995). Ils ont montré qu'un modèle qui considérait deux états différents de transmission, un état infecté excréteur et un état infecté superexcréteur, donnait des résultats qui s'approchaient des observations du terrain. Ce modèle suggérait également qu'un groupe minimal de huit individus était nécessaire pour maintenir la tuberculose de façon enzootique.

Au Royaume Uni, le blaireau est une espèce protégée et son abattage, même dans le cadre du contrôle d'une maladie infectieuse, est très mal perçu par l'opinion publique. Le gazage des terriers, a été abandonné en 1982 pour ces raisons et remplacé par le piégeage et abattage au fusil des animaux capturés (Smith *et al.*, 1997). Ces mesures de lutte étaient appliquées dans

une zone restreinte autour des foyers bovins qui couvrait une surface de 7 km<sup>2</sup> en moyenne. A la même époque, il a été décidé aussi pour des raisons de protection animale de libérer les femelles en lactation qui étaient piégées. En 1986, une recommandation officielle limitait les opérations de contrôle des populations de blaireaux à l'élevage où un foyer de tuberculose à *M. bovis* avait été constaté. En employant cette approche, moins d'un km<sup>2</sup> était couvert par les opérations de contrôle. En 1994, un essai a démarré en utilisant un test de diagnostic ante-mortem ELISA afin d'identifier les terriers où au moins un animal serait positif. Les terriers où des animaux étaient trouvés positifs étaient piégés et tous les blaireaux capturés, abattus. Smith, en reprenant le modèle précédent, a examiné ces nouvelles stratégies, en considérant l'effet de l'abattage, la libération de femelles en lactation et l'utilisation du test de diagnostic ELISA, à partir de six groupes sociaux (Smith *et al.*, 1997). Le piégeage/abattage était simulé en attrapant et en abattant 80% des blaireaux, soit dans deux groupes sociaux (stratégie localisée), soit dans tous les six groupes de blaireaux (stratégie étendue). Les femelles en lactation pouvaient infecter tous leurs petits ou aucun, afin de simuler les deux extrêmes de la transmission pseudo-verticale. Les femelles en lactation capturées étaient soit, toutes libérées soit, toutes abattues. En combinant les différents options de piégeage, de contrôle et de transmission pseudo-verticale de la maladie, 18 combinaisons possibles ont été examinées et chacune en utilisant neuf valeurs du taux de transmission d'infection annuel. Ce modèle prédisait que la transmission pseudo-verticale de la maladie augmentait la prévalence et la probabilité du maintien de la maladie de 10% et que la libération de toutes les femelles en lactation avait un impact faible sur la réduction de la tuberculose. Des données plus récentes sur les paramètres de la maladie ont été utilisées, ce qui a donné comme résultat une diminution de la population de 10%, plus faible de ce qui avait été prédit auparavant (Anderson et Trewhella, 1985; White et Harris, 1995) et plus en accord avec les données du terrain.

En utilisant le même modèle, mais à une plus grande échelle et en considérant une différence de la transmission de la maladie selon le sexe et la présence d'élevages bovins, l'efficacité de l'utilisation du test ELISA a été examinée (Smith *et al.*, 2001). A la différence des modèles précédents, l'hétérogénéité spatiale a été prise en compte en fixant la taille de chaque groupe social. Les conclusions étaient que l'utilisation du test ELISA pourrait être efficace si plus de deux animaux étaient capturés et testés dans chaque groupe social. La prévalence de tuberculose et l'apparition de nouveaux foyers bovins étaient réduites pour n'importe quelle mesure de contrôle si le test ELISA était utilisé pour dépister les terriers infectés.

Ce dernier modèle a servi à tester différentes stratégies de contrôle (Smith *et al.*, 2001). Les résultats étaient en accord avec ceux du modèle de White et Harris (White et Harris, 1995) sur la meilleure efficacité du gazage et du nettoyage en anneau comme mesures de contrôle. Cependant, la vaccination et un abattage planifié étaient plus efficaces pour la réduction de la prévalence de la maladie que le gazage ou le nettoyage en anneau. Trois stratégies de contrôle planifié entraînaient une réduction forte de l'incidence dans les élevages bovins : 1) abattage suivi d'un dépistage continu avec le test ELISA et abattage des positifs, 2) vaccination continue et dépistage/abattage des positifs et 3) dépistage continu et abattage des positifs.

Le modèle de Smith *et al.* (Smith *et al.*, 2001) a été repris pour créer un modèle individu-centré pour comparer l'utilisation de la vaccination et l'abattage en tant que mesures de contrôle (Wilkinson *et al.*, 2004). Bien que moins coûteuse, la vaccination mettrait plus de temps (7 à 20 ans) à réduire la prévalence de 50% que l'abattage (3 à 5 ans). Il a été aussi montré que la vaccination à 80% des groupes avec une probabilité d'immunisation de 10% était plus effective dans la diminution de la prévalence de la tuberculose qu'une vaccination de 10% des groupes avec une probabilité d'immunisation de 80%. Les résultats des simulations indiquaient qu'il fallait immuniser au moins 40% des blaireaux sains pour éradiquer la maladie. Les auteurs ont conclu que la vaccination serait une alternative possible à l'abattage pour combattre la maladie.

Un modèle simple utilisant des équations différentielles a été développé par Smith et Cheeseman pour comparer les effets de différentes méthodes de contrôle, dont la stérilisation temporaire ou permanente, vis à vis d'une maladie aiguë, telle que la rage, et d'une maladie chronique, telle que la tuberculose à *M. bovis* (Smith et Cheeseman, 2002). Ce modèle montrait que l'abattage était plus effectif que la vaccination pour éradiquer les deux maladies dans une population isolée, l'effet étant plus marqué dans le cas de la tuberculose. Si l'on ajoutait un abortif au vaccin les résultats s'approchaient de ceux de l'abattage. Si l'abortif était remplacé par un contraceptif, alors les chances d'éradication de la maladie et d'extinction de la population étaient très similaires à celles de l'abattage.

Les valeurs des paramètres utilisés dans le modèle de simulation de Smith (Smith *et al.*, 2001), ainsi que les deux états de transmission de la maladie (infecté excréteur et infecté superexcréteur), ont été repris dans un modèle individu-centré spatial (Shirley *et al.*, 2003). Les auteurs se sont intéressés au développement d'une méthodologie pour évaluer la

sensibilité du modèle aux différents paramètres en prenant en compte une analyse de puissance, des coefficients de corrélation partiels et une régression logistique binaire. L'application de cette méthode au modèle développé a révélé que la persistance à long terme de la maladie dépendait de la taille de la population, (en considérant une faible mortalité et une probabilité élevée de produire une portée), de l'infection due à des blaireaux infectés superexcréteurs et de la transmission entre les groupes sociaux par les femelles (la force d'infection est plus élevée chez les femelles d'après le modèle).

Le modèle le plus récent, du type SI avec équations différentielles, examinait la transmission de la maladie entre les blaireaux et les bovins (les bovins pouvant aussi infecter les blaireaux) et différentes possibilités de contrôle chez les deux espèces. Pour entraîner un  $R_0 < 1$ , le modèle permettait de déterminer i) la sensibilité du test pour dépister les bovins infectés et les abattre et ii) la périodicité de son utilisation (Cox *et al.*, 2005).

### **1.3.3.2. Possums**

Les possums sont des animaux solitaires, nocturnes et peuvent occuper plusieurs tanières sur une surface de 0,6 à 3,5 ha. L'accouplement se produit toute l'année mais plus fréquemment en automne et au printemps (Fulford *et al.*, 2002). Différentes formes de transmission de la tuberculose à *M. bovis* ont été évoquées chez cette espèce : pendant l'accouplement, lors des luttes entre mâles, par partage d'une même tanière et de la mère aux petits (Morris et Pfeiffer, 1995) (Jackson *et al.*, 1995).

Le premier modèle publié de tuberculose chez le possum était du type SEI avec des équations différentielles (Barlow, 1991). Il considérait tout d'abord un modèle simple avec une population homogène, ensuite une structure d'âge a été prise en compte et finalement une fonction de transmission non-linéaire qui a aussi été utilisée dans un modèle avec les blaireaux (cf. équation (3)) (Barlow, 1996) pour modéliser une hétérogénéité spatiale grâce à un paramètre d'agrégation de la maladie. Le coefficient de transmission,  $\beta$ , était supposé varier inversement avec la densité de l'hôte, ce qui revient à dire que la transmission était fréquence-dépendante. Les résultats obtenus indiquaient que le modèle à population homogène ne pouvait pas reproduire la faible prévalence et le renouvellement élevé des populations des possums observés sur le terrain et que donc une hétérogénéité de type spatiale était nécessaire. Trois scénarios ont été considérés qui étaient en accord avec les observations

du terrain : 1) maladie chronique avec une période de latence courte et une période infectieuse longue (6 mois et 1,5 ans), maladie aiguë avec une période de latence longue (1 an) et ne période infectieuse courte (3 mois) et 3) maladie aiguë avec des périodes latente et infectieuse courtes (2 à 3 mois). Les résultats obtenus avec le troisième scénario s'approchaient plus de la réalité.

Ce même modèle a été utilisé pour évaluer l'efficacité de l'abattage, la stérilisation et la vaccination en tant que mesures de contrôle (Barlow, 1991). Les auteurs ont également pris en compte différents taux d'immigration annuelle d'individus infectés à partir de zones endémiques et les coûts des mesures de contrôle. La vaccination donnait de moins bons résultats que les deux autres mesures. L'empoisonnement a donné les meilleurs résultats du point de vue coût-bénéfice et prenait moins de temps que la stérilisation pour diminuer la prévalence de la tuberculose. Ce modèle a été utilisé comme référence pour la réglementation concernant le contrôle de la tuberculose dans les populations de possums en Nouvelle Zélande (Smith, 2001).

Une extension du modèle précédent a été réalisée en l'appliquant sur une maille spatiale. Deux classes d'âge et le sexe ont été considérés et la naissance et la dispersion étaient saisonnières (Barlow, 1993). La dispersion spatiale de la maladie se produisait lors de la dispersion des jeunes, la migration étant densité-dépendante, et il y avait également transmission de la maladie de voisin à voisin. Le modèle prédisait une propagation de la tuberculose de 3 km par an. La prise en compte d'une zone tampon pour enrayer la propagation de la maladie était une des recommandations qui ont été tirées à partir du modèle.

Une méthode alternative de contrôle est d'ignorer la tuberculose et de se concentrer sur l'éradication du possum en tant qu'espèce en considérant qu'il s'agit d'une espèce introduite en Nouvelle-Zélande qui est invasive (Barlow, 1994). Cette approche a été traitée par Barlow au moyen d'un modèle qui examinait l'effet d'un immunocontraceptif en utilisant un virus de type herpes sexuellement transmissible. Un modèle simple à équations différentielles a été utilisé. Les conclusions tirées étaient qu'une telle approche était envisageable surtout si elle était combinée à des abattages. Cependant, l'immunité contre l'herpes virus ou une agrégation spatiale du virus pourrait réduire considérablement son efficacité.

Le modèle simple de Barlow, utilisé pour les blaireaux, a été aussi appliqué aux possums (Barlow, 1996). Encore une fois, l'abattage donnait des meilleurs résultats que la vaccination.

Pfeiffer a développé un modèle individu-centré très détaillé, avec une structure à six modules et en utilisant des simulations de Monte-Carlo (Pfeiffer, 1994). Les modules représentaient des aspects du comportement, de l'écologie et de l'infection du possum : la sélection de la tanière, la reproduction, l'infection, la survie, le vieillissement, l'émigration et l'immigration. Trois compartiments de la maladie ont été considérés (sensibles, infectés non excréteurs et infectés excréteurs) et la transmission pouvait se produire par quatre mécanismes : interaction sociale par proximité des tanières, contamination environnementale de la tanière, accouplement et transmission pseudo-verticale (à 100% si la mère est infectée). L'évolution d'une population de possums était simulée avec un pas de temps d'un jour. Plusieurs hypothèses sur le comportement, la dynamique de la population et de l'infection ont été nécessaires afin d'attribuer des valeurs aux nombreux paramètres utilisés. Ce modèle a prédit une prévalence faible et une agrégation spatiale de la maladie, une faible diminution des effectifs à cause de la maladie et aucune relation entre la densité de la population et la prévalence.

Un modèle déterministe du type SI, avec équations différentielles et sans immigration a été développé pour examiner les résultats avec différentes formes de la relation entre le taux de contact et la densité de la population (Roberts, 1996). La suivante formule pour le taux de contact a été utilisée :

$$c = \frac{N}{1 - \varepsilon + \varepsilon N} \quad (5)$$

où  $N$  représente la densité de population et  $\varepsilon$  est un paramètre qui sert à donner différentes formes à la relation entre le taux de contact et la densité de population.  $\varepsilon = 0$ , correspond à  $c=N$ , tandis que  $\varepsilon=1$ , correspond à  $c=1$ . L'auteur a examiné trois valeurs de ce paramètre : 0, 0,5 et 0,95. Le modèle montrait que la maladie se propageait rapidement et qu'il était nécessaire de réduire la population de possums de 43% pour éradiquer la maladie, ce qui impliquerait d'abattre les animaux à un taux de 9% annuel. Le même résultat pourrait être obtenu en gardant 40% de la population immunisée contre la maladie, ce qui pourrait être obtenu en vaccinant la population à un taux de 15% annuel. L'analyse de sensibilité du modèle a permis d'établir que ces deux conclusions étaient très sensibles aux changements

des valeurs des paramètres. Inversement, les différentes formes de la fonction de la relation entre le taux de contact et la densité de la population n'avaient aucune influence sur ces résultats.

Ce même modèle a été utilisé pour étudier la naissance saisonnière, plus en accord avec la réalité de l'accouplement saisonnier des possums (Roberts et Kao, 1998). Les résultats ont été similaires à ceux obtenus avec le modèle précédent qui considérait la naissance comme un processus continu.

Le modèle précédent a été adapté pour introduire une variabilité au coefficient de transmission  $\beta$  en lui attribuant une distribution normale (Roberts et Saha, 1999). Les auteurs ont trouvé qu'une variance élevée de  $\beta$  peut entraîner comme résultat une extinction de la maladie alors que le modèle déterministe prédisait sa persistance (Roberts, 1996).

Kao et Roberts ont écrit le premier modèle de tuberculose chez les possums qui incluait des bovins et les aspects économiques de son contrôle (Kao et Roberts, 1999). La composante possum était un modèle de type SI, avec équations différentielles et une relation non-linéaire entre le taux de contact et la densité de population (équation (4) avec  $\varepsilon = 0,5$ ) tandis que la composante bovin était du type SEI. Trois coefficients de transmission ont été estimés (bovin-bovin, possum-possum, possum-bovin) et trois options de contrôle ont été examinées (abattage des possums, vaccination des possums et vaccination des bovins), ainsi que les coûts de chacune d'elles. Le modèle indiquait que par rapport à la vaccination des bovins, la vaccination des possums était plus avantageuse économiquement dans des zones de petite taille et l'abattage des possums dans des zones de taille moyenne. L'efficacité de la vaccination chez les bovins dépendrait de la possibilité de pouvoir faire un test intradermique chez les bovins vaccinés.

Un autre modèle a été écrit avec des équations différentielles, du type SI, avec des taux de naissance et de mortalité densité-dépendants (Barlow, 2000). La nouveauté de ce modèle par rapport aux précédents est de considérer une fonction de transmission avec un paramètre supplémentaire  $k$ , pour modéliser une agrégation spatiale de la maladie :

$$f_{(S \rightarrow I)} = kS \ln \left( 1 + \frac{\beta I}{k} \right) \quad (6)$$

Plus  $k$  est petit, plus le degré d'agrégation est important. L'effet est de réduire le nombre moyen d'individus infectés par individu sensible. Cette fonction modélise à la fois une agrégation spatiale de la maladie ainsi qu'une hétérogénéité du risque d'être infecté pour un animal sensible. La relation entre le taux de contact et la densité de population a été considérée non-linéaire (équation (4) avec  $\varepsilon = 0,5$ ). En réalité, il s'agit d'un modèle du type SEI puisque seule une proportion des animaux infectés ont été considérés excréteurs, le reste étant considérés non excréteurs. Le fait d'introduire l'hétérogénéité dans la transmission a entraîné un meilleur ajustement des prédictions du modèle aux données du terrain. Il a permis, notamment, d'utiliser une valeur élevée du coefficient de transmission  $\beta$  afin de produire une dynamique rapide de la maladie sans pour autant donner des résultats s'éloignant des prévalences et des densités de population observées sur le terrain. Ceci n'était pas faisable avec les modèles précédents, qui considéraient un mélange homogène des individus. Il a montré également, qu'à la différence des prédictions des autres modèles, le contrôle de la maladie était difficile ; ce qui a été corroboré dans la pratique.

Le dernier modèle développé pour simuler la tuberculose chez le possum est un modèle de méta-population (Fulford *et al.*, 2002). Ce type de modèle assume un mélange homogène des individus à l'intérieur d'un bloc d'individus avec des migrations entre les blocs. Les auteurs ont considéré trois compartiments de la maladie (sensibles, infectés non excréteurs et infectés excréteurs), deux classes d'âge (jeunes et adultes) et que seuls les jeunes pouvaient migrer d'un bloc à un autre. Les jeunes qui migraient pouvaient être sensibles ou infectés non excréteurs mais pas infectés excréteurs. Tout d'abord le comportement de la maladie a été étudié à l'intérieur d'un seul bloc, ensuite avec deux blocs et finalement avec quatre blocs. Au niveau spatial trois configurations possibles ont été considérées pour les quatre blocs : en ligne, en cercle et irradiée (un au centre et trois autour). L'abattage, comme méthode de contrôle, a été étudié avec chacune de ces trois configurations. Si seulement un bloc faisait l'objet de cette mesure, les résultats n'étaient pas bons pour les configurations en ligne et en cercle, tandis qu'elle pourrait marcher pour la configuration irradiée à condition de l'appliquer dans le bloc central. Si la mesure était appliquée à un sous-ensemble de blocs, elle donnait de bons résultats pour les configurations en ligne et en cercle en l'appliquant à la moitié des blocs en alternance (et non à deux blocs contigus). La migration jouait un rôle important dans le maintien de la maladie : les résultats du contrôle étaient meilleurs si en réalisant un abattage dans un bloc on réduisait de 40% les possibles animaux migrateurs. La

composante spatiale de ce modèle a aussi permis d'expliquer l'agrégation de la présence de la maladie observée sur le terrain.

### 1.3.3.3. Cervidés

Aucun modèle sur la tuberculose à *M. bovis* n'a été développé pour étudier la tuberculose à *M. bovis* chez les cerfs élaphe. Deux modèles ont été écrits pour deux autres espèces de cervidés : un chez des daims (*Dama dama*) d'élevage, que nous ne décrivons que brièvement puisque il ne s'agit pas d'une population sauvage d'animaux, et un dans une population de cerfs de Virginie sauvages (*Odocoileus virginianus*).

Un modèle a été utilisé pour évaluer la transmission de la tuberculose intra-élevage suite à l'introduction de l'infection dans sept élevages de daims en Suède (Wahlstrom *et al.*, 1998). Des données historiques ont servi à l'estimation du nombre effectif de contacts d'un individu pendant une année. Un modèle basé sur la méthode de Reed-Frost a été développé pour évaluer ce nombre. Le modèle de Reed-Frost est un modèle dit à chaînes binomiales (Hurd et Kaneene, 1993). Dans ce type de modèles un nombre de nouveaux cas d'une maladie se produit à chaque étape d'une série. Le nombre de nouveaux cas à n'importe quelle étape a une distribution binomiale qui dépend du nombre d'individus infectieux et du nombre d'individus sains de l'étape précédente. Pour utiliser ces modèles on suppose que la période infectieuse est de durée constante et que la probabilité d'infection est constante à chaque étape. Le modèle de Reed-Frost est à temps discret et part du principe du mélange homogène des individus et de la durée constante de la période infectieuse. Le nombre de cas d'une maladie peut être dérivé de façon déterministe à partir de la formule récursive suivante :

$$C_{t+1} = S_t (1 - q^{C_t}) \quad (7)$$

où  $t$  est le temps,  $C_{t+1}$  le nombre de nouveaux cas au temps  $t+1$ ,  $S_t$  le nombre d'individus sensibles au temps  $t$  et  $q = 1 - p$ ,  $p$  étant la probabilité qu'un individu sensible ait un contact susceptible de transmettre l'infection à un autre individu (Wahlstrom *et al.*, 1998).

Dans le modèle des élevages de daims,  $p$  a été calculé à partir de la formule suivante :

$$p = k / (N - 1) \quad (8)$$

où  $k$  est le nombre de contacts effectifs d'un individu pendant la période de temps ( $t$ ) et  $N$  est la taille de la population.

Pour chaque élevage, une valeur de  $k$  a été estimée en ajustant le modèle à l'incidence observée dans chaque élevage. Les valeurs obtenues ont été faibles, ce qui indiquerait que la propagation de la maladie chez les daims est lente.

Un autre modèle a été mis au point pour simuler la situation de la tuberculose à *M. bovis* au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) chez les cerfs de Virginie. Ces animaux s'organisent en familles de femelles qui incluent la descendance de deux saisons de reproduction (Hesselton et Monson, 1982). A la période du rut, qui commence en automne, ces groupes se désagrègent et les femelles deviennent solitaires. Les familles se reconstituent à la fin de cette période et plusieurs familles peuvent se regrouper pendant l'hiver. A l'approche de la saison de mise bas, au début du printemps, les regroupements de l'hiver se dispersent et les femelles qui vont mettre bas s'isolent. Le faon reste à l'écart de la famille et est nourri par intermittence par la mère pendant ses premières semaines de vie. A l'âge du sevrage, vers quatre mois, il intègre la famille et ne se sépare de sa mère qu'en début de rut. La tuberculose à *M. bovis* et la dynamique de population chez les cerfs de Virginie au Michigan ont été modélisés par McCarty et Miller au moyen d'une chaîne de Markov (McCarty et Miller, 1998). La chaîne de Markov est un type de modèle à chaînes binomiales (Hurd et Kaneene, 1993). Une chaîne de Markov est un processus stochastique possédant la propriété markovienne. Dans un tel processus, la prédiction du futur à partir du présent ne nécessite pas la connaissance du passé. Une chaîne de Markov en temps discret est une séquence  $X_1, X_2, X_3, \dots$  de variables aléatoires. L'ensemble de leurs valeurs possibles est appelé l'espace d'états, la valeur  $X_n$  étant l'état du processus au moment  $n$ . Dans le modèle de McCarty et Miller l'état du système à un moment donné est décrit par un vecteur de nombre d'individus à  $k$  dimensions,  $k$  étant le nombre de combinaisons possibles pour le sexe (mâle, femelle), classe d'âge (faon, adulte) et état de santé (sensible, infecté non excréteur à la première année, infecté non excréteur à la deuxième année et infecté excréteur). Les transitions entre les vecteurs successifs sont gouvernées par une série de règles simples déterminées par la dynamique de la population hôte. La transition de l'état sensible à l'état infecté de la maladie est représenté par un modèle mécaniste simple qui part de deux hypothèses : 1) la sous-population d'infectieux produit un certain nombre de contacts infectieux par individu et par unité de temps, 2) tous les individus de la population ont la même probabilité d'entrer en contact avec un individu infectieux par

unité de temps. La probabilité d'un individu sensible d'être infecté par un ou plus membres  $I$  de la sous-population d'infectieux par unité de temps ( $P_{(s \rightarrow i)}$ ) est calculée à partir de :

$$P_{(s \rightarrow i)} = 1 - (1 - P)^I \quad (9)$$

où  $P$  représente la probabilité pour un individu sensible d'être infecté par un contact infectieux avec un seul individu infecté excréteur par unité de temps. Cette probabilité se calcule :

$$P = 1 - (1 - 1/N)^\beta \quad (10)$$

où  $\beta$  (coefficient de transmission) est le nombre de contacts infectieux par individu infectieux par unité de temps et  $N$  est la taille totale de la population.  $(1 - 1/N)$  représente la probabilité de l'individu sensible de ne pas recevoir un contact infectieux de l'individu infecté excréteur. En remplaçant (9) dans (8) on obtient la probabilité pour un individu sensible d'être infecté par unité de temps :

$$P_{(s \rightarrow i)} = 1 - (1 - 1/N)^{I\beta} \quad (11)$$

Dans un premier temps les auteurs ont construit un modèle déterministe en l'ajustant aux tendances observées de la maladie et de la dynamique de la population entre les années 1955 et 1995. A chaque pas de temps, fixé à un an, des faons naissent, des adultes de n'importe quel état de santé mouraient, soit à la chasse ou de mort naturelle (les deux étant combinées dans un seul paramètre), la transmission maternelle et horizontale de la maladie se produisait, les animaux qui étaient infectés non excréteurs la première année passaient à être infectés non excréteurs la deuxième année et ceux qui étaient infectés non excréteurs la deuxième année devenaient infectés excréteurs. Ce modèle a servi à estimer un coefficient de transmission  $\beta$  par sexe en se basant sur la différence observée de la prévalence selon le sexe, plus élevée chez les mâles que chez les femelles. La transmission maternelle a été arbitrairement fixée à un taux de 0,25. Les valeurs trouvées des coefficients de transmission ont ensuite été utilisées pour réaliser des simulations de Monte Carlo dans un but prospectif. Les conditions initiales ont été celles de la dernière année obtenues avec le modèle déterministe et l'évolution de la maladie a été étudiée sur une période de 30 années. Une distribution Beta a été attribuée au taux de naissance et les résultats en présence et en absence de la transmission pseudo-verticale ont été examinés. Les auteurs ont considéré trois scénarios de contrôle de la maladie (sans préciser quels types de mesures il faudrait appliquer pour les accomplir) : réduction du taux

de survie, réduction de la transmission et une combinaison des deux. La réduction du taux de survie était moins effective que celle de la transmission et les résultats étaient meilleurs si les deux étaient combinés. La transmission pseudo-verticale n'a pas eu une grande influence sur les résultats obtenus. Parmi les remarques des auteurs sur leur propre modèle il faut retenir que l'hypothèse de mélange homogène des individus pour évaluer les paramètres de transmission de la maladie n'était pas appropriée puisque les cerfs de Virginie sont organisés en groupes matriarcaux. Un dérangement de ces groupes par une action externe, par exemple l'augmentation du taux de chasse, pourrait entraîner un déséquilibre qui pourrait affecter la transmission de la tuberculose. Une hétérogénéité dans la distribution et la prévalence de la tuberculose n'a pas non plus été prise en compte ce qui pourrait également fausser les prédictions du modèle. La transmission a été considérée fréquence-dépendante et de ce fait la probabilité de persistance de la maladie aurait pu être surestimée. Une autre critique est celle de Smith (Smith, 2001), qui a souligné qu'une hypothèse majeure de ce modèle, qui ne reposait sur aucune preuve, était celle de la date d'introduction de la maladie dans la population de cervidés qui aurait pu entraîner une estimation très élevée du coefficient de transmission. A son tour, l'utilisation de cette valeur du coefficient de transmission lors des simulations aurait produit des estimations de la prévalence bien plus élevées de ce qu'elles seraient en réalité.

### **1.3.4. Conclusions**

Une des grandes difficultés rencontrées lors de la modélisation de maladies chez une espèce sauvage est l'incertitude portant sur les valeurs attribués aux paramètres utilisés dans le modèle. En effet, il est non seulement nécessaire d'estimer des paramètres liés à la dynamique des populations mais il faut aussi avoir des informations disponibles sur l'évolution de la maladie au sein de cette population pour pouvoir estimer, par exemple, le coefficient de transmission. Les deux espèces pour lesquelles plusieurs modèles sur la tuberculose à *M. bovis* ont été développés, le blaireau et le possum, ont fait l'objet d'études sur le terrain qui ont permis d'accéder à des données plus fiables pour estimer ces paramètres. Néanmoins, pour plusieurs de ces modèles, le coefficient de transmission a dû être ajusté pour pouvoir aboutir aux résultats de prévalence observés sur le terrain. Quelques études de terrain ont été réalisées afin de pouvoir estimer des valeurs du coefficient de transmission à partir de l'évaluation de la force d'infection chez les possums (Caley et Ramsey, 2001) et chez les furets (Caley et Hone, 2002). Un autre aspect qui n'a pas été considéré systématiquement dans les publications est l'analyse de sensibilité des paramètres qui permet d'identifier ceux

qui ont une influence importante sur les résultats et pour lesquels il serait nécessaire de faire des études pour mieux les évaluer.

Un autre écueil se présente également lors de l'utilisation d'un type de modèle qui suppose certaines conditions qui ne sont pas forcément remplies par le comportement d'une maladie chez une espèce sauvage. C'est ainsi que les premiers modèles « simples » développés pour les blaireaux avec des équations différentielles aboutissaient à des résultats qui ne correspondaient pas à la réalité. La prise en compte d'une saisonnalité pour certains paramètres faisait varier peu ces résultats. Ces modèles partaient du principe du mélange homogène des individus qui de toute évidence ne pouvait pas s'appliquer aux blaireaux qui sont organisés en groupes sociaux. C'est pour cette raison qu'une certaine hétérogénéité a été introduite surtout au niveau spatial dans des modèles postérieurs. Les modèles simples peuvent inclure une hétérogénéité spatiale mais seulement comme un paramètre forcé (Barlow, 1991) et donc les raisons de l'agrégation spatiale obtenue dans les résultats ne peuvent pas être déterminées. Les modèles qui tiennent compte de l'espace de manière explicite sont du type individu-centré ou méta-population mais ceux-ci en revanche demandent une connaissance détaillée sur la dynamique des populations et l'estimation de plusieurs paramètres. Une autre possibilité pour prendre en compte l'hétérogénéité de la maladie est de considérer une autre forme de la fonction de transmission. Ceci a été fait par Barlow (Barlow, 2000) avec un modèle de la tuberculose chez les possums, considéré le meilleur modèle non spatial pour simuler l'interaction entre le possum et la tuberculose (Smith, 2001). L'hétérogénéité peut aussi se produire du fait d'une relation non-linéaire entre le taux de contact et la densité de population. D'après Smith (Smith, 2001), la forme exacte de cette relation pourrait être évaluée à partir de données empiriques. A ce jour seule une étude de ce type, portant sur le degré de partage des tanières par les possums à différentes densités, a été publiée (Caley *et al.*, 1998).

Les modèles développés avaient comme objectif non seulement de reproduire le mieux possible ce qui se passait dans la nature mais aussi d'évaluer différentes mesures de contrôle. Les auteurs ont examiné les mesures qui étaient applicables sur le terrain (abattage) et d'autres qui, bien qu'ayant fait l'objet de recherches, ne sont pas encore disponibles (vaccination, contrôle de la fertilité). En ce qui concerne l'abattage, il est important de considérer la forme de la fonction de transmission. Si elle est densité-dépendante, en réduisant à la moitié la densité de population, par abattage, on réduit également à la moitié le nombre de

contacts effectifs. Si elle est fréquence-dépendante, la réduction de la population n'a aucun effet sur le nombre de contacts entre individus. L'abattage pourrait même augmenter le taux de contact, à cause d'une perturbation sociale avant de le faire diminuer (Smith, 2001). Donc, encore une fois, il est important de prendre en compte les aspects écologiques et éthologiques de l'espèce ciblée puisque pour une espèce sociale, telle que le blaireau, l'abattage, qui touche la structure sociale, pourrait exacerber la propagation de la maladie au lieu de la faire diminuer. En revanche, la vaccination, qui n'a en principe aucun effet au niveau du comportement, pourrait entraîner des meilleurs résultats.

Seuls trois modèles ont examiné l'interaction entre une espèce sauvage et une espèce domestique vis à vis de la tuberculose à *M. bovis* : deux modèles blaireau-bovin (Smith *et al.*, 2001; Cox *et al.*, 2005) et un modèle possum-bovin (Kao et Roberts, 1999). Aucun modèle n'a considéré l'interaction entre deux espèces sauvages.

**Tableau IV. Comparaison des différents modèles de tuberculose bovine**

Espèce	Type	Compartiments	Temps	Espace	Classes d'âge	Transmission	Valeurs $\beta$	Transmission pseudo-verticale	Mortalité due à la maladie	Analyse de Sensibilité	Mesures de contrôle	Estimation paramètres à partir de données	Référence
Blaireau	Déterministe EDO	SEI	continu	non	non	densité-dép	1,54 km2 /an	oui	oui	oui	-	Pop : oui Mala : non	(Anderson et Trehwella, 1985)
Blaireau	Numérique Déterministe EDO	SEIR	continu	non	oui	densité-dép	1,4-4,5 km2/ an	oui	non	non	-	Explorés par méthode numérique	(Bentil et J.D., 1993)
Blaireau	Numérique Déterministe EDO	SEIR	continu	non	non	densité-dép	5/an	non	non	non	-	numérique	(Ruxton, 1996)
Blaireau	Numérique Déterministe EDO	SEI	continu	non	non	-densité-dép -t.c.non-linéaire	(Anderson et Trehwella, 1985)	non	oui	non	abattage vaccination fertilité	non	(Barlow, 1996)
Blaireau	Déterministe EDO	SI	continu	non	non	-densité-dép -fréq-dép	0,2/0,3/0,36	non	non	non	-	Pop : oui Mala : oui	(Swinton et al., 1997)
Blaireau	Numérique Individu-centré	SEI	discret	oui	oui	interactions locales	-	non	oui	non	abattage vaccination	non	(White et Harris, 1995)
Blaireau	Individu-centré	SEI	discret	oui	oui	interactions locales	-	non	oui	non	abattage fertilité	non	(White et Harris, 1995)
Blaireau	Simulation Individu-centré	SEII	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	oui	-	Pop : oui Mal : oui	(Smith et al., 1995)
Blaireau	Simulation Individu-centré	SEII	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	non	abattage	Pop : oui Mal : oui	(Smith et al., 1997)
Blaireau	Déterministe EDO	SI	continu	non	non	-	-	non	non	non	abattage	non	(Cox et al., 2005)
Analytique													

SEII : sensibles/infectés non excréteurs /infectés excréteurs/infectés superexcréteurs saison : saisonnalité densité-dép : densité-dépendant fréq-dép : fréquence-dépendant t.c. : taux de contact Pop : population Mal : maladie

Tableau IV (cont.)

Espèce	Type	Compartiments	Temps	Espace	Classes d'âge	Transmission	Valeurs $\beta$	Transmission pseudo-verticale	Mortalité due à la maladie	Analyse de Sensibilité	Mesures de contrôle	Estimation paramètres à partir de données	Référence
Blaireau	Simulation Individu-centré	SEII	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	non	abattage vaccination	Pop : oui Mal : oui	(Smith <i>et al.</i> , 2001) (Smith <i>et al.</i> , 2001) (Wilkinson <i>et al.</i> , 2004)
Blaireau	Simulation Individu-centré	SEII	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	non	abattage vaccination	Pop : oui Mal : oui	(Wilkinson <i>et al.</i> , 2004)
Blaireau	Déterministe EDO Numérique	SEI	continu	non	non	densité-dép	0,00132/an	non	oui	oui	abattage vaccination fertilité	Pop : oui Mal : oui	(Smith <i>et al.</i> , 2002) (Cheeseman, 2002)
Blaireau	Simulation Individu-centré	SEII	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	oui	-	Pop : oui Mal : oui	(Shirley <i>et al.</i> , 2003)
Possom	Déterministe EDO Numérique	SEI	continu	non	oui	-densité-dép -avec paramètre d'agrégation	0,11/1/0.7 / an	non	oui	non	abattage vaccination fertilité	Pop : oui Mal : non	(Barlow, 1991; Barlow, 1991)
Possom	Déterministe EDO Numérique	SEI	continu	oui	oui	densité-dép	0,11/1/0.7 / an	oui	oui	non	abattage	Pop : oui Mal : non	(Barlow, 1993)
Possom	Déterministe EDO Numérique	SI	continu	non	non	fréq-dép	-	non	oui	non	fertilité	non	(Barlow, 1994)
Possom	Déterministe EDO Numérique	SEI	continu	non	non	densité-dép	(Barlow, 1991)	non	oui	non	abattage vaccination fertilité	non	(Barlow, 1996)

SEII : sensibles/infectés non excréteurs /infectés excréteurs/infectés superexcréteurs saison : saisonnalité densité-dép : densité-dépendant fréq-dép : fréquence-dépendant  
t.c. : taux de contact Pop : population Mal : maladie

Tableau IV (cont.)

Espèce	Type	Compartiments	Temps	Espace	Classes d'âge	Transmission	Valeurs $\beta$	Transmission pseudo-verticale	Mortalité due à la maladie	Analyse de Sensibilité	Mesures de contrôle	Estimation à partir de paramètres	Référence
Possum	Simulation Individu-centré	SEI	discret	oui	oui	interactions locales	-	oui	oui	oui	-	Pop : oui Mal : oui	(Pfeiffer, 1994)
Possum	Déterministe EDO	SI	continu	non	non	-densité-dép -t.c.non-linéaire	5/7/an	oui	oui	oui	abattage vaccination	non	(Roberts, 1996)
Possum	Numérique Déterministe EDO	SI	continu saisonnalité	non	non	t.c.non-linéaire	-	oui	oui	non	abattage vaccination	non	(Roberts et Kao, 1998)
Possum	Analytique Déterministe EDO	SI	continu	non	non	t.c.non-linéaire	(Roberts, 1996)	oui	oui	non	-	non	(Roberts et Saha, 1999)
Possum	Analytique Déterministe EDO	SI	continu	non	non	t.c.non-linéaire	-	oui	oui	non	abattage vaccination	non	(Kao et Roberts, 1999)
Possum	Analytique Déterministe EDO	SI	continu	non	non	-avec paramètre d'agrégation -t.c.non-linéaire	2,5/an	oui	oui	oui	-	non	(Barlow, 2000)
Possum	Métapopulation	SEI	continu	oui	oui	densité-dép	(Roberts, 1996)	oui	non	non	abattage	(Roberts, 1996)	(Fulford <i>et al.</i> , 2002)
Cerf	Markov Simulation	SEEI	discret	non	oui	fréquence-dép	Fem : 0,5 Mâle : 8,1	oui	non	oui	-	Pop : oui Mal : non	(McCarty et Miller, 1998)
Cerf	Reed-Frost Déterministe	SI	discret	non	non	densité-dép	-	non	non	non	-	oui	(Wahlstrom <i>et al.</i> , 1998)

SEII : sensibles/infectés non excréteurs /infectés excréteurs/infectés superexcréteurs saison : saisonnalité densité-dép : densité-dépendant fréq-dép : fréquence-dépendant  
t.c. : taux de contact Pop : population Mal : maladie

**EVOLUTION DU PREMIER FOYER CONNU DE  
TUBERCULOSE A *MYCOBACTERIUM BOVIS* DANS UNE  
POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES  
EN FRANCE**

## **2. EVOLUTION DU PREMIER FOYER CONNU DE TUBERCULOSE A *M. BOVIS* DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES EN FRANCE**

### **2.1. Introduction**

En France, déclarée officiellement indemne de tuberculose bovine, aucun réservoir sauvage de la maladie n'avait été identifié avant 2001 quand, au début de l'année, des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose ont été trouvées dans les poumons et le foie de trois cerfs élaphe (*Cervus elaphus*) chassés en forêt de Brotonne en Normandie. L'infection à *M. bovis* a été confirmée par culture à partir de prélèvements des organes atteints. Une enquête épidémiologique, mise en place afin de déterminer la présence d'autres porteurs sauvages ainsi que pour déterminer la prévalence de l'infection dans cette espèce, a confirmé la présence de la tuberculose à *M. bovis* chez les cerfs élaphe et les sangliers (*Sus scrofa*) pendant la saison de chasse 2001/2002. Des mesures de contrôle, telles que la réduction de la population de cerfs élaphe, l'interdiction de l'affouragement et la destruction des viscères ont été instaurées à la fin de l'année 2002. Des clôtures ont été mises en place à certains endroits afin d'éviter le contact entre les animaux sauvages et les bovins en lisières de la forêt. Entre 2003 et 2005, dans le cadre de la surveillance passive de la maladie, l'isolement de *M. bovis* à partir des cadavres d'animaux trouvés morts ou d'animaux chassés avec des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose a permis de confirmer sa circulation dans les mêmes espèces. Pendant la saison de chasse 2005/2006, une deuxième enquête a été réalisée afin d'évaluer l'évolution de la maladie dans les espèces atteintes et pour détecter son éventuelle transmission à d'autres espèces.

Par ailleurs, la présence de l'infection chez les animaux sauvages s'est accompagnée d'une apparente augmentation de son incidence chez les animaux domestiques, au moins pour les dernières années. En effet, entre 1986 et 2003, douze foyers d'origine inconnue ont été signalés dans les élevages bovins autour de la forêt. Deux autres foyers ont été signalés en 2006.

Ces découvertes nous ont amenés à nous interroger sur le rôle joué par ces espèces sauvages dans la persistance ou l'introduction de la maladie dans certains élevages malgré les mesures de contrôle, ainsi que le risque qu'elles représentent en tant que réservoir de la maladie. La tuberculose à *M. bovis* a été détectée chez plusieurs espèces dans différents pays. Des facteurs

écologiques telles que la densité de la population, les différences d'habitat et les interactions entre espèces semblent être responsables de la présence ou de l'absence d'un réservoir sauvage de la tuberculose dans un pays (Morris *et al.*, 1994). Pour une espèce donnée, les critères pour être considérée un réservoir de la tuberculose incluent tout d'abord la persistance de l'infection sans aucune évidence de transmission à partir d'autres espèces, ensuite une claire association spatiale et temporelle entre l'infection chez cet hôte et l'incidence de l'infection chez les animaux domestiques, qui peut être confirmée par typage moléculaire, et enfin, le fait que la réduction de la densité de population de l'hôte sauvage par des mesures de contrôle entraîne une réduction prolongée de l'incidence de l'infection chez des espèces « indicatrices » jouant alors le rôle de sentinelles (bovins le plus souvent) (Morris et Pfeiffer, 1995). En Europe, l'exemple le mieux connu est celui du blaireau, qui a été identifié en tant que réservoir de la maladie dans les îles britanniques (Muirhead *et al.*, 1974; Gallagher et Clifton-Hadley, 2000; Delahay *et al.*, 2001; Simpson, 2002). Le portage de *M. bovis* a été aussi signalé chez les cerfs élaphe en Espagne, où il est considéré comme espèce réservoir (Parra *et al.*, 2005; Vicente *et al.*, 2006). Le possum est considéré réservoir de la maladie en Nouvelle Zélande et a été directement impliqué dans l'infection de plusieurs élevages bovins (Buddle *et al.*, 1994; Coleman et Cooke, 2001). Au Michigan, Etats-Unis d'Amérique, le foyer de *M. bovis* chez les cerfs de Virginie (*Odocoileus virginianus*) représente une menace pour le bétail (O'Brien *et al.*, 2002; Palmer *et al.*, 2004). Par ailleurs, d'autres espèces sont considérées comme des réservoirs accidentels ; elles s'infectent quand les niveaux de prévalence de *M. bovis* sont élevés chez l'espèce réservoir mais ne semblent pas entretenir la maladie quand celle-ci est absente (Morris *et al.*, 1994).

L'établissement de la tuberculose à *M. bovis* dans des populations d'animaux sauvages en France soulève des questions non seulement sur son contrôle mais aussi sur les aspects techniques de sa surveillance. Bien que la culture de *M. bovis* soit le test de référence pour le diagnostic de la tuberculose, il est trop lent et trop coûteux pour le suivi de l'infection dans une population sauvage. Pour cette raison, des méthodes alternatives pour l'identification d'animaux infectés seraient très utiles, à condition que leurs performances diagnostiques (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative) soient satisfaisantes. L'examen d'autopsie révélant la présence de lésions évoquant la tuberculose serait un bon outil diagnostique qui a par ailleurs été utilisé pour estimer la prévalence de la tuberculose chez le cerf élaphe et le sanglier en Espagne (Parra *et al.*, 2005; Vicente *et al.*, 2006).

Les objectifs de cette étude épidémiologique sont :

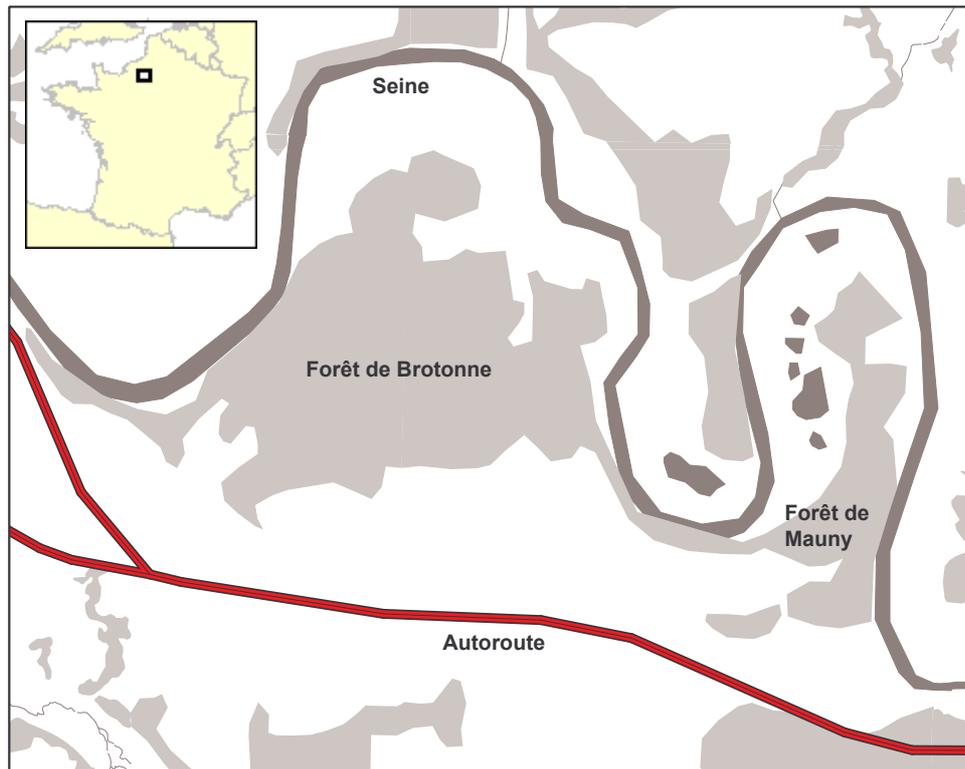
- de présenter les résultats des enquêtes mises en place pendant les saisons de chasse 2001/2002 et 2005/2006 dans les forêts de Brotonne et de Mauny, en Normandie,
- d'étudier le lien entre le foyer de tuberculose dans la faune sauvage et les foyers bovins au moyen du typage moléculaire,
- de quantifier pour la première fois les sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen d'autopsie en tant qu'outil diagnostique dans une population de cerfs élaphe sauvages et,
- finalement, de déduire à partir des analyses des résultats le rôle épidémiologique joué par les différentes espèces impliquées dans le foyer de tuberculose à *M. bovis* dans les forêts de Brotonne et de Mauny.

## **2.2. Matériel et méthodes**

### **2.2.1. Zone d'étude**

La zone d'étude inclut la forêt de Brotonne (81 km<sup>2</sup>) et la forêt voisine de Mauny (10 km<sup>2</sup>) situées dans la région de Haute Normandie, forêts entre lesquelles des échanges d'ongulés sauvages ont été constatés. Cette zone est située entre les boucles de la Seine et l'autoroute A13 (Fig.1). Les échanges d'animaux entre ces forêts et les forêts environnantes peuvent donc être considérés comme négligeables.

Les forêts de Brotonne et de Mauny sont des forêts dédiées à la chasse de cerfs, chevreuils et sangliers de longue date. L'habitat est caractérisé par la présence de conifères et de feuillus. Des élevages d'animaux domestiques, principalement de bovins, sont présents autour des deux forêts.



**Figure 4. Situation géographique des forêts de Brotonne et Mauny**  
(gris clair : forêt, gris foncé : la Seine, noir : autoroute)

Lors de l'enquête mise en place pendant la saison de chasse 2001/2002, des tailles d'échantillons d'ongulés ont été calculées par l'ONCFS afin de détecter un pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* dans chaque espèce d'au moins 3% avec une confiance de 95%. Ces espèces étaient le cerf élaphe, le chevreuil (*Capreolus capreolus*) et le sanglier.

Pour le cerf élaphe et le chevreuil la taille de la population a été estimée à partir de comptages au phare et en tenant compte également du nombre d'animaux chassés pendant la saison de chasse de l'année précédente. Pour les sangliers, seul le nombre d'animaux chassés pendant la saison de chasse de l'année précédente a été pris en compte pour cette estimation. Dans les deux cas, l'estimation de la taille de population reste peu fiable. D'après l'effectif estimé, 90 cerfs, 90 sangliers et 86 chevreuils devaient être prélevés.

Pendant la saison de chasse 2005/2006 l'ONCFS a prévu de collecter tous les cerfs élaphe chassés, soit 150 et 30% des sangliers chassés, soit 150 sangliers pour estimer de façon plus précise les pourcentages de prévalence chez ces deux espèces. Afin de détecter la maladie

chez d'autres espèces, des chevreuils, des renards (*Vulpes vulpes*) et des blaireaux (*Meles meles*) ont été également échantillonnés.

Il a été demandé aux chasseurs de coopérer en soumettant les animaux chassés pour un examen d'autopsie. L'examen d'autopsie des animaux prélevés a été réalisé par un vétérinaire. Le prélèvement d'organes avec des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose ainsi que le prélèvement systématique du tractus respiratoire et des ganglions lymphatiques rétropharyngiens ont été effectués. Lors de la deuxième enquête les ganglions lymphatiques mésentériques ont été également prélevés.

Un numéro de référence a été attribué à chaque carcasse et l'espèce, date de collecte, localisation, sexe, estimation de l'âge et présence ou absence de lésions macroscopiques ont été enregistrés. L'âge des cerfs a été estimé d'après leur poids et chez les mâles d'après la taille des bois et l'aspect corporel. Chez les sangliers, l'âge a été déterminé d'après la couleur du pelage et le poids. Etant donné que ces méthodes d'estimation de l'âge ne sont pas précises, deux classes d'âge ont été considérées chez les cerfs (jeunes :  $\leq 2$  ans, adultes :  $>2$  ans) et chez les sangliers (jeunes :  $\leq 1$  an, adultes :  $>1$  an).

### **2.2.2. Pourcentages de prévalence de l'infection à *M. bovis* et de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose**

Le pourcentage de prévalence de l'infection à *M. bovis* et le pourcentage de prévalence de la présence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose chez le cerf élaphe ont été calculées pour chaque saison de chasse. Les animaux présentant des lésions évoquant la tuberculose dans les organes ou les ganglions lymphatiques à l'examen d'autopsie ainsi que ceux dont les ganglions lymphatiques présentaient des lésions à une inspection plus minutieuse au laboratoire ont été inclus dans le calcul du pourcentage de la prévalence des lésions macroscopiques. Les animaux chez lesquels *M. bovis* a été isolé ont été considérés comme infectés. Si des mycobactéries autres que *M. bovis* étaient isolées ou si des mycobactéries n'étaient pas isolées du tout, ils étaient considérés comme non infectés.

Les sangliers échantillonnés n'ont pas été sélectionnés aléatoirement car les chasseurs ont soumis plus souvent des animaux présentant des lésions macroscopiques lors de l'éviscération que des animaux sans lésions visibles. Pour cette raison, un pourcentage de prévalence calculé

à partir de ces échantillons serait surestimé. Toutefois, si le pourcentage de prévalence ne peut pas être estimé directement, des bornes de ce pourcentage de prévalence ont été proposées en utilisant deux dénominateurs différents : pour la borne supérieure le dénominateur est le nombre d'animaux échantillonnés et pour la borne inférieure le dénominateur est le nombre d'animaux chassés.

Des analyses bivariées ont été réalisées pour étudier l'association entre le statut vis à vis de l'infection et le sexe d'un côté et la classe d'âge de l'autre côté seulement chez les cerfs, puisque les sangliers ont été considérés non représentatifs. Quelques animaux pour lesquels l'âge n'était pas disponible ont été exclus de l'analyse.

Le calcul du pourcentage de prévalence et les analyses des tables de contingence ont été effectués avec un logiciel statistique (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

### **2.2.3. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen d'autopsie utilisé en tant qu'outil diagnostique**

La sensibilité (proportion d'animaux qui ont donné des résultats positifs au test diagnostique étudié parmi ceux qui sont infectés), la spécificité (proportion d'animaux qui ont donné des résultats négatifs parmi ceux qui ne sont pas infectés), la valeur prédictive positive (proportion d'animaux vraiment infectés parmi ceux qui ont donné des résultats positifs au test) et la valeur prédictive négative (proportion d'animaux non infectés parmi ceux qui ont donné des résultats négatifs au test) sont des indicateurs classiques pour quantifier la performance d'un test de diagnostic (Dohoo *et al.*, 2003). Ils ont été calculés pour la présence de lésions macroscopiques évoquant la tuberculose en utilisant la culture en tant que test de référence et en distinguant sexe, classe d'âge et année d'enquête. Seules les données sur les cerfs ont été analysées puisque l'échantillonnage des sangliers est considéré biaisé.

Le fait d'avoir prélevé des ganglions mésentériques en 2005/2006 et pas en 2001/2002 aurait pu faire apparaître un biais dans l'estimation de ces indicateurs d'une année à l'autre. Nous avons examiné cette possibilité en analysant les résultats de 2005/2006 dans deux cas de figure où ce biais aurait pu apparaître. Le premier cas est celui des animaux qui, ne présentant pas de lésions macroscopiques, pourraient être positifs pour *M. bovis* au niveau des ganglions mésentériques et négatifs au niveau des autres tissus. Le deuxième cas est celui des animaux

présentant des lésions macroscopiques dans des tissus autres que les ganglions mésentériques et positifs pour *M. bovis* au niveau des ganglions mésentériques exclusivement.

L'estimation de la sensibilité, de la spécificité et des valeurs prédictives a été réalisée avec un logiciel statistique (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

#### **2.2.4. Etude comparative des lésions macroscopiques chez les cerfs et les sangliers**

Les données de l'enquête de la saison de chasse 2005/2006, pour laquelle une description détaillée sur le cadre lésionnel était disponible, ont été utilisées pour réaliser une étude comparative entre les cerfs élaphe et les sangliers. Dans ce but, la sévérité des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose a été quantifiée en utilisant le score présenté dans le tableau V. L'association entre le sexe, la classe d'âge et le score de lésions chez les animaux infectés a été étudiée par espèce. L'association entre le score de lésions et l'espèce a été également explorée. En considérant que le pourcentage de sangliers sans lésions pouvait être biaisé du fait qu'ils n'avaient pas été sélectionnés aléatoirement, nous avons exclu le score 1 pour évaluer cette association.

**Tableau V. Score de sévérité de lésions évocatrices de tuberculose**

- 
1. Pas de lésion visible
  2. Lésion dans au moins un type de nœud lymphatique (rétropharyngien, pulmonaire<sup>1</sup> ou mésentérique) et pas de lésion au niveau des organes
  3. Lésion au niveau des organes sur un seul site (thorax, abdomen ou autres<sup>2</sup>) avec ou sans lésion dans les nœuds lymphatiques
  4. Lésion au niveau des organes sur au moins deux sites (thorax, abdomen ou autres<sup>2</sup>) avec ou sans lésion dans les nœuds lymphatiques

---

<sup>1</sup> inclut les nœuds lymphatiques trachéaux, bronchiques et médiastinaux

<sup>2</sup> peau, glande mammaire, colonne vertébrale ou articulations des membres

Le coefficient kappa a été calculé pour comparer la concordance entre la présence de lésions macroscopiques et l'isolement de *M. bovis* par type de nœud lymphatique : rétropharyngiens, pulmonaires (incluant les nœuds lymphatiques trachéaux, bronchiques et médiastinaux) et mésentériques.

Les analyses bivariées et le calcul des kappas ont été effectués avec un logiciel statistique (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

### **2.2.5. Culture, méthodes d'identification et typage moléculaire**

Au laboratoire une dissection soignée du tractus respiratoire a été faite afin de récupérer les nœuds lymphatiques. Les tissus avec des lésions macroscopiques ainsi que les nœuds lymphatiques rétropharyngiens, pulmonaires et mésentériques ont été emballés individuellement, étiquetés et acheminés pour être mis en culture.

Les nœuds lymphatiques ont été sectionnés et examinés pour détecter la présence de lésions macroscopiques et leur présence /absence a été enregistrée.

Les méthodes d'isolement des bactéries, culture et identification des bactéries sont décrites dans l'annexe 6.1.1.

Des techniques de typage moléculaire ont été appliquées à la totalité des souches de *M. bovis* isolées dans le cadre des enquêtes ainsi qu'aux souches isolées dans les foyers bovins des alentours des forêts de Brotonne et Mauny. Les autres souches de *M. bovis* de la collection du Laboratoire National de Référence provenant des foyers bovins de tuberculose de Normandie et possédant le même spoligotype que les souches isolées dans le cadre de cette étude ont été aussi analysées.

La méthode de spoligotypage a été appliquée d'après la description de Kamerbeek *et al.* (Kamerbeek *et al.*, 1997). Cette méthode, utilisée en première instance pour le typage de *M. bovis*, est basée sur la caractérisation de la région DR (*direct repeat*) qui est spécifique au complexe tuberculosis. Cette région correspond à l'alternance régulière de deux types de séquences : des séquences toutes identiques, appelées DR du même nom que la région elle-même, et de séquences toutes différentes les unes d'autres, appelées « spacers ». Un unique couple d'amorces permet ainsi de révéler la présence ou l'absence de 43 DRs.

Une deuxième méthode de typage, plus discriminative que la précédente, est le MIRU-VNTR (*Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit – Variable Number Tandem Repeat*). Cette

méthode repose sur le dénombrement de répétitions en tandem de plusieurs régions génomiques indépendantes disséminées tout au long du génome de la mycobactérie qui présentent une hypervariabilité allélique et qui évoluent indépendamment l'une de l'autre (Supply *et al.*, 2001). Cette analyse a été réalisée par amplification des locus QUB 11a, 11b, 26, 3336 ainsi que des locus ETR-A, ETR-B, ETR-C et ETR-D (Frothingham et Meeker-O'Connell, 1998; Skuce *et al.*, 2002), qui sont les plus polymorphes pour les souches françaises de *M. bovis* (Boschioli M.L., communication personnelle).

Les méthodes de laboratoire pour le typage moléculaire sont décrites dans l'annexe 6.1.1..

## **2.3. Résultats**

### **2.3.1. Pourcentages de prévalence de l'infection à *M. bovis* et des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose**

#### **2.3.1.1. Cerfs élaphe**

Pour les deux enquêtes, un nombre équilibré de cerfs par sexe et classe d'âge a été obtenu, excepté pour l'enquête de 2001/2002 où le nombre d'animaux jeunes était faible.

Lors de la première enquête, 80 cerfs élaphe sur 94 animaux chassés dans la forêt domaniale ont été examinés (les 21 animaux chassés dans les forêts privés n'ont pas fait l'objet de l'échantillonnage). Huit animaux pour lesquels l'âge n'était pas disponible ont été exclus de l'analyse. Le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques a été de 17,7% (intervalle de confiance [IC] à 95% : 8,6%-26,7% ; précision relative de 51%). Lors de la deuxième enquête, des lésions macroscopiques ont été trouvées chez 34 des 138 cerfs échantillonnés pour lesquels l'âge était disponible (7 animaux exclus, 149 animaux chassés) (24,6% ; IC à 95% : 17,5%-31,8% ; précision relative de 29%). La différence de prévalences entre les deux enquêtes n'est pas significative (Tableau VI).

Des résultats de culture positifs à *M. bovis* ont été obtenus chez 12,5% (IC à 95% : 4,9%-20,1% ; précision relative de 61%) des animaux examinés lors de la deuxième enquête. Le pourcentage de prévalence de l'infection a augmenté ( $\chi^2 = 3,85$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,05$ ) lors de la deuxième enquête puisque 23,9% (IC à 95% : 16,8% - 31,0% ; précision relative de 30%) des cerfs échantillonnés ont été trouvés positifs à *M. bovis* (Tableau VI). Cette augmentation du

pourcentage de prévalence est plus marquée chez les adultes. De 13,3% en 2001/2002, il est passé à 31,7% en 2005/2006 ( $\chi^2 = 5,13$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,02$ ), tandis que chez les jeunes le pourcentage de prévalence est resté stable (11,1% et 13,6%, respectivement). Les valeurs des pourcentages de prévalence de l'infection sont supérieures à 10% quand ils sont calculées par classe d'âge ou par sexe, à l'exception de celles des femelles jeunes lors de la première enquête (pourcentage de prévalence nul) (Tableau VI).

Les différences de précision relative des estimations de pourcentages de prévalence de lésions macroscopiques et de l'infection d'une enquête à l'autre obéissent au fait que lors de la première enquête l'échantillon a été prévu pour détecter la maladie, alors que lors de la deuxième enquête l'objectif était d'estimer de façon plus précise la prévalence en prélevant un nombre plus important d'animaux.

Par ailleurs, lors de la deuxième enquête une association significative a été trouvée entre l'âge et l'infection à *M. bovis* (Tableau VI) : le pourcentage de prévalence chez les adultes a été presque le double (31,7%) de celui trouvé chez les jeunes (13,6%) ( $\chi^2 = 6,07$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,01$ ). Lors de la première enquête, les pourcentages de prévalence de l'infection chez les jeunes et les adultes ont été similaires.

Aucun lien n'a été trouvé entre le sexe et l'infection à *M. bovis* dans aucune des enquêtes.

### **2.3.1.2. Sangliers**

Chez les sangliers, lors de la première enquête, les bornes inférieure et supérieure du pourcentage de prévalence ont été respectivement de 6,6% (25 animaux positifs sur 377 animaux chassés) et de 29,4% (25 animaux positifs sur 85 animaux échantillonnés) (Tableau VII). Ces valeurs semblent plus élevées lors de la deuxième enquête : 14,1% pour la borne inférieure de la prévalence (65 animaux positifs sur 462 animaux chassés) et 49,1% pour la borne supérieure (65 animaux positifs sur 155 échantillonnés). Des lésions macroscopiques évoquant la tuberculose étaient présentes chez 29% des animaux soumis lors de la première enquête et 42% des animaux soumis lors de la deuxième enquête. Des lésions macroscopiques et des

**Table VI. Prévalence de lésions macroscopiques et prévalence de l'infection chez les cerfs élaphe par année d'enquête, classe d'âge et sexe**

Saison de chasse	Classe d'âge (Années)	Femelles avec			Mâles avec			Total avec		
		Lésions(%)	Infection(%)	n	Lésions(%)	Infection(%)	n	Lésions (%)	Infection(%)	n
2001/2002*	Juveniles (≤2)	1(8,3)	0(0,0)	13	3(23,1)	3(23,1)	13	4 (15,4)	3 (11,1)	27
	Adultes (> 2)	4(16,7)	4(16,0)	25	4(26,7)	2(17,8)	17	8 (19,1)	6 (13,3)	45
	Total	5 (13,9)	4 (10,5)	38	7 (25,0)	5 (16,7)	30	12 (17,7)	9 (12,5)	72
2005/2006	Juveniles (≤2)	6(22,2)	4(14,8)	27	2(6,3)	4(12,5)	32	8 (13,6)	8 (13,6)	59
	Adultes (> 2)	11(24,4)	11(24,4)	45	15(44,1)	14(41,2)	34	26 (33,0)	25 (31,7)	79
	Total	17(23,6)	15(20,8)	72	17(25,8)	18 (27,3)	66	34 (24,6)	33 (23,9)	138

\* pas d'informations sur le sexe pour 4 animaux ; pas d'information sur les lésions pour 2 mâles et 2 femelles

isolements positifs pour *M. bovis* ont été enregistrés chez les jeunes, les adultes, les mâles et les femelles.

### 2.3.1.3. Autres espèces

Aucun des 38 chevreuils examinés en 2001/2002 n'a présenté des lésions macroscopiques ou n'a été positif pour *M. bovis* (Tableau VII). Sur 53 chevreuils examinés lors de l'enquête de 2005/2006, une femelle de 2 ans sans lésion apparente a donné des résultats positifs pour *M. bovis*. Un renard (49 examinés) et un blaireau (55 examinés) ont été trouvés infectés (isolement d'une souche) sans lésions.

**Tableau VII. Animaux chassés, échantillonnés et positifs pour *M. bovis***

Saison de chasse	Nombre d'animaux	Sangliers	Chevreaux	Blaireaux	Renards
2001/2002	Chassés	377	67	-	-
	Echantillonnés	85	38	0	0
	Positifs	25	0	0	0
2005/2006	Chassés	462	90	-	-
	Echantillonnés	155	53	55	49
	Positifs	65	1	1	1

### 2.3.2. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen d'autopsie utilisé en tant qu'outil diagnostique

Des informations complètes sur les lésions macroscopiques et les résultats de culture de *M. bovis* ont été obtenues en même temps pour 68 cerfs lors de la première enquête (Tableau VIII) et pour 138 cerfs lors de la deuxième enquête (Tableau IX). La sensibilité sur l'ensemble des données peut être calculée à partir des tableaux VIII et IX : sur 42 animaux positifs à la culture de *M. bovis*, 36 présentaient des lésions macroscopiques, ce qui correspond à une sensibilité de 86%. Néanmoins, cette valeur cache des variations importantes entre les deux enquêtes et entre les classes d'âge. Chez les adultes, la sensibilité est passée de 50% lors de la première enquête à 96% lors de la deuxième enquête (test de Fisher,  $p = 0,02$ ). Cette augmentation n'a pas été observée chez les jeunes, chez qui la sensibilité est restée à peu près la même (le nombre d'animaux est cependant très faible). Les variations de la sensibilité se reflètent également dans les valeurs prédictives positives : si la proportion d'animaux à culture positive parmi les animaux présentant des lésions

macroscopiques est de 78% sur l'ensemble des données des deux enquêtes, des différences importantes existent chez les adultes d'une enquête à l'autre, puisque la valeur prédictive positive a augmenté de 37,5% à 92,3% (test de Fisher,  $p = 0,04$ ). Chez les jeunes, la valeur prédictive positive est restée stable (75%).

**Tableau VIII. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de la présence de lésions macroscopiques utilisant la culture en tant que test de référence lors de l'enquête de 2001/2002 chez les cerfs élaphe par classe d'âge**

	Lésions macroscopiques	Culture		Total
		Positive	Négative	
Jeunes	Présentes	3	1	4 (75,0%) <sup>3</sup>
	Absentes	0	22	22 (100,0%) <sup>4</sup>
	Total	3 (100,0%) <sup>1</sup>	23 (95,7%) <sup>2</sup>	26
Adultes	Présentes	6	2	8 (75,0%) <sup>3</sup>
	Absentes	2	49	51 (96,1%) <sup>4</sup>
	Total	8 (75,0%) <sup>1</sup>	51 (96,1%) <sup>2</sup>	59

<sup>1</sup> Sensibilité <sup>2</sup> Spécificité <sup>3</sup> Valeur prédictive positive <sup>4</sup> Valeur prédictive négative

**Tableau IX. Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de la présence de lésions macroscopiques utilisant la culture en tant que test de référence lors de l'enquête de 2005/2006 chez les cerfs élaphe par classe d'âge**

	Lésions macroscopiques	Culture		Total
		Positive	Négative	
Jeunes	Présentes	3	5	8 (37,5%) <sup>3</sup>
	Absentes	3	31	34 (91,2%) <sup>4</sup>
	Total	6 (50,0%) <sup>1</sup>	36 (91,2%) <sup>2</sup>	42
Adultes	Présentes	24	2	26 (92,3%) <sup>3</sup>
	Absentes	1	52	53 (98,1%) <sup>4</sup>
	Total	25 (96,0%) <sup>1</sup>	54 (96,3%) <sup>2</sup>	79

<sup>1</sup> Sensibilité <sup>2</sup> Spécificité <sup>3</sup> Valeur prédictive positive <sup>4</sup> Valeur prédictive négative

Ces variations n'ont pas été observées pour la spécificité ou pour la valeur prédictive négative. La proportion d'animaux sans lésions parmi les animaux négatifs à la culture (spécificité), calculée à partir de l'ensemble des données des deux enquêtes, a été de 94%. De

façon similaire, la proportion d'animaux à culture négative parmi les animaux sans lésions (valeur prédictive négative) a été de 96%.

Parmi les animaux qui n'ont pas présenté de lésions macroscopiques en 2005/2006 il n'y avait aucun résultat positif pour *M. bovis* à partir du seul examen des ganglions mésentériques. Les 9 animaux qui ont donné des résultats positifs exclusivement au niveau des ganglions mésentériques parmi les 33 cerfs positifs, présentaient donc des lésions macroscopiques, c'est à dire qu'ils auraient aussi été détectés lors de la première enquête. De l'autre côté, un seul animal (un jeune) présentant des lésions macroscopiques ailleurs que dans les ganglions mésentériques a donné des résultats positifs à l'isolement au niveau des ganglions mésentériques en 2005/2006. Au regard de ces résultats, on peut considérer que le fait d'avoir ajouté le prélèvement des ganglions mésentériques lors de l'enquête 2005/2006 n'a pas biaisé les résultats de sensibilité, spécificité et valeurs prédictives par rapport à la première enquête. Donc, aucune correction de ces résultats ne s'impose.

### **2.3.3. Etude comparative des lésions macroscopiques chez les cerfs et les sangliers**

#### **2.3.3.1. Cerfs élaphe**

Les lésions de type caséux étaient prédominantes chez les cerfs. Les lésions dans les nœuds lymphatiques apparaissaient sous forme d'abcès de taille variable contenant du pus crémeux. Les nœuds lymphatiques mésentériques présentaient de gros abcès pouvant mesurer jusqu'à 30 cm, entourés d'une coque fibreuse et adhérents au tissu sous-jacent. Une adénomégalie était fréquente. Des lésions de forme nodulaire de 1 à 7 cm de diamètre adhérent au parenchyme pulmonaire ont été trouvées au niveau des poumons. Quelques cerfs présentaient une pleurésie fibrineuse, associée parfois à des abcès pleuraux. Des lésions tuberculeuses ont aussi été observées dans l'aorte, le diaphragme, le foie, la rate, le rumen, les articulations (colonne vertébrale, membres), la glande mammaire et sous la peau. Aucune lésion calcifiée visible macroscopiquement n'a été observée.

Aucune association statistique n'a été trouvée entre le sexe ou la classe d'âge et le score de sévérité de lésions. Sur les 30 animaux infectés présentant des lésions macroscopiques, 6 étaient des jeunes et 24 étaient des adultes. Une maladie généralisée, qui correspond au score 4, a été observée chez deux jeunes infectés (1 femelle, 1 mâle) et 4 adultes infectés (4 mâles).

Quatorze animaux infectés, principalement des adultes, ont présenté des lésions exclusivement dans un des trois types de nœuds lymphatiques qui ont été examinés systématiquement (score 2) (Tableau X). Sur les 10 animaux infectés avec un score 3, 4 ont présenté des lésions au niveau des organes thoraciques, 2 dans des organes abdominaux et 4 dans d'autres organes ou sites (glande mammaire, peau, articulations).

**Tableau X. Nombre de cerfs élaphe et de sangliers par score de lésions selon leur statut d'infection vis à vis de *M. bovis***

Score	Cerfs élaphe			Sangliers		
	Infectés	Non Infectés	Total	Infectés	Non Infectés	Total
1	3	107	110	15	76	91
2	14	1	15	39	11	50
3	10	2	12	11	3	14
4	6	2	8	0	0	0
Total	33	112	145	65	90	155

Les nœuds lymphatiques mésentériques ont été les plus fréquemment atteints. Sur les 26 animaux infectés avec des lésions dans au moins un des trois types de nœuds lymphatiques considérés dans l'étude, seul un ne présentait pas de lésions dans les nœuds lymphatiques mésentériques (Tableau XI). Vingt et un cerfs infectés avaient des lésions exclusivement au niveau des nœuds lymphatiques tandis que 4 animaux infectés avaient des lésions simultanément dans les nœuds lymphatiques rétropharyngiens ou pulmonaires.

Des résultats bactériologiques n'ont pas été obtenus pour chaque type de nœud lymphatique chez tous les cerfs pour le calcul des kappas (Tableau XII). La concordance la plus élevée a été obtenue entre la présence de lésions macroscopiques au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques et la culture (kappa=78%) tandis qu'elle a été faible pour les nœuds lymphatiques rétropharyngiens (kappa=20%) et pulmonaires (kappa=25%). Les valeurs du kappa pour les nœuds lymphatiques mésentériques ont été plus élevés chez les adultes (90%) que chez les jeunes (43%).

**Table XI. Nombre de cerfs élaphe et de sangliers ayant des lésions évoquant la tuberculose dans les nœuds lymphatiques listés selon leur statut d'infection vis à vis de *M. bovis* par isolement**

Nœuds lymphatiques			Cerfs élaphe			Sangliers		
Rétropharyngiens	Pulmonaires	Mésentériques	Infectés	Non infectés	Total	Infectés	Non infectés	Total
+	+	+	1	0	1	1	0	1
+	+	-	0	0	0	5	0	5
+	-	+	2	1	3	5	0	5
+	-	-	1	0	1	35	12	47
-	+	+	1	0	1	2	0	2
-	+	-	0	0	0	1	0	1
-	-	+	21	2	23	0	0	0
-	-	-	7	109	116	16	78	94
Total			33	112	145	65	90	155

### 2.3.3.2. Sangliers

Des lésions macroscopiques ont été trouvées principalement au niveau des nœuds lymphatiques rétropharyngiens. Les nœuds lymphatiques pouvaient être modérément hypertrophiés avec de multiples lésions nodulaires caséo-calcaires de quelques millimètres de diamètre ou fortement hypertrophiés et contenir, en quantité importante, un pus liquide verdâtre. Les nœuds lymphatiques pulmonaires et médiastinaux étaient rarement hypertrophiés et portaient un petit nombre de lésions nodulaires caséo-calcaires regroupées en amas. Le même type de lésions a été observé au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques, visibles seulement à la coupe du ganglion. Trois animaux ont présenté une induration très marquée des poumons avec une quantité importante de caséum calcifié à la coupe tandis qu'un animal avait une petite lésion caséo-calcaire dans un poumon. Aucun abcès n'a été observé au niveau des poumons. Une pleurésie fibrineuse a été notée chez 7 sangliers infectés dont un présentait également des lésions pulmonaires. Seuls 4 animaux présentaient des lésions dans d'autres organes ou sites : 1 une péritonite fibrineuse, 2 une hépatite interstitielle et 1 une arthrite au niveau de la jambe.

Aucune association statistique n'a été détectée entre le sexe ou la classe d'âge et le score de sévérité de lésions. Sur les 50 animaux infectés avec des lésions 23 étaient des jeunes et 35 des adultes et l'âge n'était pas disponible pour un animal. Aucun animal n'a présenté de maladie généralisée (score 4) (Tableau X). La plupart des animaux infectés présentaient des lésions au niveau d'au moins un type des trois nœuds lymphatiques qui ont été examinés systématiquement, principalement les rétropharyngiens, et seulement 11 avaient des lésions au niveau des organes internes (10 dans les organes thoraciques et 1 dans les organes abdominaux).

Sur les 49 animaux infectés présentant des lésions dans au moins un des trois nœuds lymphatiques, 46 avaient des lésions dans les nœuds lymphatiques rétropharyngiens (Tableau XI). Sur ces 46 animaux, 35 présentaient des lésions exclusivement au niveau des nœuds lymphatiques rétropharyngiens et 11 avec également des lésions au niveau des nœuds lymphatiques pulmonaires ou mésentériques.

**Tableau XII. Concordance entre la présence de lésions macroscopiques et la culture de *M. bovis* par type de nœud lymphatique chez les cerfs élaphe et les sangliers**

Espèce	Nœud lymphatique	Lésions macroscopiques /Culture				Total	Kappa %
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Cerf élaphe	Rétropharyngien	2	3	9	95	109	20
	Pulmonaire	2	0	11	115	128	25
	Mésentérique	22	5	4	94	125	78
Sanglier	Rétropharyngien	40	14	8	52	114	61
	Pulmonaire	8	1	21	112	142	36
	Mésentérique	6	2	19	98	125	30

La valeur kappa la plus élevée a été obtenue pour les nœuds lymphatiques rétropharyngiens (kappa=61%) des sangliers inspectés pour lesquels des informations sur la culture et la présence de lésions macroscopiques dans les trois types de nœuds lymphatiques étaient disponibles (tableau XII). En considérant l'âge, cette valeur a été un peu moins élevée chez les adultes (55,2%) que chez les jeunes (64,5%). Pour les nœuds lymphatiques pulmonaires et mésentériques, les valeurs kappa pour l'ensemble d'individus ont été faibles (36% et 30%, respectivement) et n'ont pas varié de manière importante par classe d'âge.

### 2.3.3.3. Comparaison du score entre les cerfs élaphe et les sangliers

Il a été trouvé une association entre le score de sévérité de lésions (score 1 exclus) et l'espèce chez les animaux infectés qui présentaient de lésions (test de Fisher,  $p < 0,001$ ). La principale différence du score entre les deux espèces a été due au fait qu'aucun sanglier ne présentait de tuberculose généralisée. De plus, le pourcentage d'animaux avec des lésions dans au moins un type de nœud lymphatique (score 2) était plus fréquent chez les sangliers infectés (78%) que chez les cerfs infectés (47%).

### 2.3.4. Culture, méthodes d'identification et typage moléculaire

Toutes les souches isolées des animaux sauvages ont présenté le même spoligotype : SB0134 (d'après la nomenclature utilisé dans la base de données [www.Mbovis.org](http://www.Mbovis.org)). Les souches des foyers bovins enregistrés près des forêts de Brotonne et de Mauny et les souches d'origine bovine des animaux sauvages possèdent un profil MIRU-VNTR identique, tandis que les souches d'autres sites de Normandie montrent des profils différents, avec au moins une différence sur deux locus (Tableau XIII).

**Tableau XIII. Profil MIRU-VNTR (dans l'ordre locus ETR A, ETR B, ETR C, ETR D, QUB 3336, QUB 11a, QUB 11b, QUB 26) de souches bovines de *M. bovis* (spoligotype SB0134) de Normandie. Le profil de la souche sauvage apparaît en gras**

Année	Nombre de foyers	Lien épidémiologique avec le foyer faune sauvage dans les forêts de Brotonne et de Mauny	Profil MIRU-VNTR									
			3	3	3	4	9	9	4	6		
1979	1	non	3	3	3	4	9	9	4	6		
1983	1	non	3	4	5	7	10	11	3	5		
1995	1	oui	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		
	1	non	2	4	5	4	10	9	3	6		
1996	1	oui	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		
	1	non	6	5	5	4	10	9	4	6		
	1	non	4	5	5	4	10	9	4	6		
1998	2	oui	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		
1999	1	oui	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		
2004	1	oui	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		
2006	2	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>		

D'autres mycobactéries ont été isolées chez des animaux qui ont été négatifs pour *M. bovis* dans les deux enquêtes : 19 *M. avium* (8 chez les cerfs, 7 chez les sangliers et 4 chez le chevreuil) et 60 mycobactéries atypiques non identifiées (19 chez les cerfs, 33 chez les sangliers et 8 chez les chevreuils). Des infections mycobactériennes mixtes ont été identifiées dans quatre cas : des mycobactéries atypiques non-identifiées plus *M. bovis* chez deux cerfs, une co-infection avec des mycobactéries atypiques non-identifiées et *M. bovis* chez un sanglier et une co-infection à *M. avium* et *M. bovis* chez le seul renard à résultat positif.

## 2.4. Discussion

Le biais d'échantillonnage lors des deux enquêtes reste inconnu car la composition des populations d'animaux sauvages sont difficiles à estimer. Par ailleurs, de manière générale, les chasseurs vont tirer préférentiellement plus souvent des cerfs mâles présentant des grands bois, donc plus âgés, alors qu'ils préféreront des sangliers jeunes. Néanmoins, les résultats de cette étude montrent que le pourcentage de prévalence de l'infection à *M. bovis* est élevé dans la population de cerfs élaphe dans la zone étudiée. Malheureusement, il y a eu un biais de sélection des sangliers parmi les animaux chassés, ceux avec des lésions macroscopiques étant plus souvent prélevés, et les pourcentages de prévalence de lésions macroscopiques et de l'infection n'ont pas pu être, en conséquence, calculés de la même manière que chez les cerfs. Cependant, le pourcentage élevé d'animaux infectés dans les échantillons, les valeurs des bornes des prévalences et l'observation de lésions macroscopiques même chez les animaux jeunes indiquent dans l'ensemble que *M. bovis* circule dans la population de sangliers. Seuls un chevreuil, un blaireau et un renard ont été trouvés infectés lors de la deuxième enquête. Il n'y a pas de raison de penser qu'il y ait eu un biais systématique vis à vis du portage de *M. bovis* dans les prélèvements de ces trois espèces. On peut donc conclure que l'infection est présente chez ces espèces mais probablement à des niveaux très bas.

Le protocole des enquêtes a permis de faire le calcul des pourcentages de prévalence des lésions macroscopiques et de l'infection sur l'ensemble des animaux prélevés ainsi que du pourcentage d'animaux infectés parmi ceux présentant des lésions macroscopiques et d'animaux avec des lésions macroscopiques parmi les infectés. La plupart des études de prévalence chez les sangliers ou les cerfs élaphe sauvages conduites dans d'autres pays ne permettent pas d'obtenir ces différentes estimations en même temps (Corner *et al.*, 1981; Serraino *et al.*, 1999; Parra *et al.*, 2005; Delahay *et al.*, 2006; Vicente *et al.*, 2006). Le

pourcentage de prévalence de l'infection chez les cerfs élaphe a augmenté de 12,5% en 2001/2002 à 23,9% en 2005/2006. L'analyse du pourcentage de prévalence par classe d'âge suggère que la situation épidémiologique a évolué d'un stade initial en 2001/2002 (les estimations du pourcentage de prévalence de l'infection par classe d'âge ont été similaires) à un stade plus avancé en 2005/2006. En effet, au fur et à mesure que le temps passe, la probabilité d'être infecté augmente puisque la tuberculose bovine est une maladie chronique qui n'est pas très létale. En accord avec ces observations, la proportion d'animaux avec des lésions macroscopiques parmi les adultes infectés a pratiquement doublé d'une enquête à l'autre. On pouvait s'attendre à une augmentation du pourcentage de prévalence chez les jeunes en considérant cette augmentation chez les adultes, cependant elle est restée stable. Si le pourcentage de prévalence chez les jeunes est considéré en tant qu'indicateur de l'incidence d'infections récentes dans la population, ces résultats suggèrent que les mesures de contrôle mises en place ont pu avoir un certain impact dans la mesure où l'incidence n'a pas augmenté. Toutefois, la tendance du pourcentage de prévalence devrait être suivie en mettant en place de futures enquêtes afin de pouvoir confirmer cette hypothèse.

La culture bactérienne rend le suivi d'un foyer lourd et onéreux à cause de la croissance lente de *M. bovis*. D'après l'expérience au laboratoire national de référence pour les mycobactéries (AFSSA-Alfort), la coloration de Ziehl-Nielsen, bien que peu chère, est une méthode médiocre pour la détection des mycobactéries (Boschioli M.L., communication personnelle). L'analyse par PCR (*polymerase chain reaction*, amplification en chaîne par la polymérase), qui présente l'avantage d'être un outil de diagnostic rapide, n'est pas une méthode de choix pour tester des mycobactéries dans les lésions macroscopiques chez des animaux sauvages. En effet, Hénault *et al.* (Hénault *et al.*, 2006) ont signalé qu'une méthode PCR pour détecter la tuberculose dans la faune sauvage était 18,5% moins sensible que la culture, confirmant ainsi les résultats d'études précédentes à ce sujet (Collins *et al.*, 1994; de Lisle *et al.*, 2002). En conséquence, des méthodes de diagnostic basées complètement ou en partie sur les résultats de l'examen d'autopsie, faciles à collecter, seraient une alternative intéressante au diagnostic de laboratoire. Il est donc important d'évaluer le biais dans l'estimation de la prévalence quand des résultats d'autopsie sont seuls utilisés. Nos données nous ont permis d'estimer la performance de l'examen d'autopsie en tant qu'outil diagnostique chez les cerfs élaphe sauvages en utilisant la culture comme test de référence (de Lisle *et al.*, 2002). Des explications sur la discordance entre la culture et les lésions macroscopiques ont été avancées précédemment par différents auteurs (Schmitt *et al.*, 1997; Lugton *et al.*, 1998; Mackintosh *et*

*al.*, 2004). Alors que la spécificité de la culture est considérée de 100%, sa sensibilité n'est pas parfaite et peut être influencée, entre autres, par la qualité du prélèvement (Schmitt *et al.*, 1997). La présence de bactéries autres que *M. bovis* pourrait expliquer aussi la présence de lésions évoquant la tuberculose à partir desquels *M. bovis* n'a pas été isolé. L'infection à *M. avium* sp. peut produire le même type de lésions macroscopiques que celles dues à *M. bovis* chez les cerfs élaphe (Mackintosh *et al.*, 2004) ainsi que les infections à *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinobacillus* or *Actinomyces spp.* (Schmitt *et al.*, 1997). *Yersinia pseudotuberculosis*, qui a été isolée chez des cervidés sauvages peut aussi être la cause de lésions évoquant la tuberculose (Lugton *et al.*, 1998; Delahay *et al.*, 2006). Les lésions pulmonaires dues à des vers tels que *Protostrongylus spp.* (Delahay *et al.*, 2006) ou *Dictyocaulus viviparus* (Lugton *et al.*, 1998) peuvent être similaires à celles de la tuberculose chez les cervidés. Chez les cochons domestiques, les cochons marrons et les sangliers, les mycobactéries du complexe *M. avium* et d'autres mycobactéries atypiques telles que *M. kansasii* et *M. fortuitum* ont été isolées dans le pharynx et dans les lésions des nœuds lymphatiques mandibulaires et mésentériques (de Lisle, 1994; Machackova *et al.*, 2003; Pate *et al.*, 2004). L'infection à *Rhodococcus equi* peut aussi entraîner des lésions de type tuberculeux chez ces animaux (Katsumi *et al.*, 1991; de Lisle, 1994; Pate *et al.*, 2004). D'un autre côté, des animaux infectés peuvent ne pas présenter des lésions macroscopiques détectables (Delahay *et al.*, 2006). Lugton *et al.* (Lugton *et al.*, 1998) n'ont pas trouvé de lésions macroscopiques chez un quart des cerfs élaphe sauvages qu'ils ont examiné. Par ailleurs, les indicateurs de performance de l'examen d'autopsie en tant qu'outil diagnostique ont été évalués dans une étude précédente (Rohonczy *et al.*, 1996) chez des cerfs élaphe d'élevage et les résultats ont été similaires à ceux que nous avons obtenus en utilisant l'ensemble des données. Néanmoins, dans cette étude précédente, ni la classe d'âge ni d'autres situations épidémiologiques n'étaient considérées. Dans notre étude, les résultats ont différencié substantiellement selon l'année de l'enquête et l'âge des animaux. La sensibilité chez les adultes a été plus élevée lors de la deuxième enquête (96%) que lors de la première (50%), tandis qu'elle a été plus élevée chez les jeunes lors de la première enquête (100%) par rapport à la seconde (75%). Chez les jeunes, la valeur prédictive positive (proportion d'animaux avec des lésions macroscopiques qui ont donné des résultats positifs à la culture) est restée stable à un niveau modéré (75%), tandis que chez les adultes, elle a augmenté significativement et, d'une façon remarquable, d'une valeur très basse en 2001/2002 à une valeur satisfaisante en 2005/2006. La spécificité et les valeurs prédictives négatives ont été bonnes lors des deux enquêtes chez les jeunes et les adultes. Le pourcentage de prévalence apparent, estimé d'après

les résultats des examens d'autopsie, aurait été surestimé par rapport au pourcentage de prévalence réel, d'après le test de référence, de 39% chez les jeunes et de 44% chez les adultes lors de la première enquête. Lors de la deuxième enquête la surestimation aurait été de 4% chez les adultes et nulle chez les jeunes en suivant le même raisonnement. Ceci indique que la situation épidémiologique devrait être prise en compte au moment de choisir le test diagnostique. En particulier l'utilisation de l'autopsie en tant qu'outil diagnostique pourrait entraîner des biais importants dans une population où l'épizootie est à un stade initial. Ce biais serait plus faible à un stade plus avancé de l'épizootie. Ainsi, la culture bactérienne pourrait être remplacée par l'examen d'autopsie chez les cerfs élaphe sauvages pour réduire les coûts, à condition que sa sensibilité et sa spécificité soient suivies dans un sous-échantillon d'animaux.

Le typage moléculaire a démontré que les isolats en provenance de la faune sauvage et les isolats des foyers bovins aux alentours des forêts de Brotonne et de Mauny étaient identiques. Leur spoligotype, SB0134, nommé précédemment GB35, est répandu parmi les souches de *M. bovis* des foyers bovins de cette région particulièrement (Haddad *et al.*, 2001). Dans la mesure où cette méthode de typage à elle seule ne suffit pas à prouver un lien infectieux entre les animaux domestiques et sauvages, l'analyse par MIRU-VNTR a été également réalisée. Les souches de foyers bovins en provenance d'autres zones de Normandie avec le même spoligotype SB0134 ont présenté manifestement des profils MIRU-VNTR différents, alors que toutes les souches en provenance des animaux sauvages des forêts de Brotonne et de Mauny et des animaux domestiques de leurs alentours avaient exactement le même profil. En conséquence, on peut conclure qu'une seule souche est responsable du foyer dans la faune sauvage et que, d'après les méthodes de typage moléculaire, c'est la même souche qui circule dans les élevages voisins depuis au moins 1995.

Dans les endroits où la tuberculose touche la faune sauvage, la question de l'identification de l'espèce réservoir se pose toujours. Dans nos enquêtes, *M. bovis* a été isolé dans quatre espèces, pour lesquelles un statut épidémiologique reste à établir. Un aspect qui peut apporter des éléments pour l'évaluation du degré d'implication des cerfs élaphe et des sangliers dans la dissémination de la maladie est la différence du cadre lésionnel constaté chez ces deux espèces. Cette différence a été corroborée par le lien significatif entre le score de gravité de lésions et l'espèce animale. Les cerfs élaphe ont présenté des lésions abcédées avec caséification dans les organes et les nœuds lymphatiques, tandis que chez les sangliers, les

lésions prédominantes étaient de type caséo-calcaire et se trouvaient principalement au niveau des nœuds lymphatiques. Les différences dans les caractéristiques des lésions entre ces deux espèces avaient été signalées précédemment (Corner *et al.*, 1981; Rhyan *et al.*, 1992; Whiting et Tessaro, 1994; Coleman et Cooke, 2001; Nugent *et al.*, 2002; Gortazar *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2005). La différence trouvée dans la distribution des scores dans les deux espèces indique que la maladie peut être plus grave chez les cerfs élaphe que chez les sangliers et ceci même chez les animaux jeunes. À la différence des cerfs élaphe, les sangliers n'ont pas présenté une maladie généralisée (score 4) et les lésions dans les organes autres que les poumons et la plèvre étaient rares. Les cerfs élaphe sont considérés moins résistants à *M. bovis* à cause de leur tendance à faire des abcès à paroi fine contenant du pus au lieu des lésions classiques du type caséo-calcaire (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991) et sur cette base sont considérés comme des réservoirs de *M. bovis* (Parra *et al.*, 2005). Dans notre étude, les pourcentages de prévalences élevés de lésions macroscopiques et d'infection chez les cerfs élaphe, sans source connue de transmission externe (bétail), la prédominance d'abcès chez les animaux qui présentaient des lésions macroscopiques, la présence de lésions caséuses dans les poumons et le fait que lors de la deuxième enquête 18% des animaux infectés présentaient des lésions d'une maladie généralisée, indiquent le rôle important joué par le cerf élaphe dans la dissémination de l'infection dans les forêts de Brotonne et de Mauny. Ces résultats expliqueraient non seulement la dissémination intra-espèce de l'infection via des aérosols contaminés mais aussi sa propagation inter-espèce.

On pense que l'infection s'est propagée dans la population de sangliers avant la mise en place des mesures de contrôle, par la consommation de carcasses ou viscères infectés de cerfs laissés sur place par les chasseurs ; la consommation de cadavres infectés de cerfs, morts naturellement, ne peut pas être exclue non plus. Dans les régions du monde où des réservoirs potentiels sont présents, tels que les possums, les buffles marrons ou des cerfs élaphe sauvages, on considère que les cochons marrons se sont infectés en consommant les cadavres ou les abats infectés de ces espèces (Corner *et al.*, 1981; Wakelin et Churchman, 1991; de Lisle, 1994). Les sangliers sont en plus considérés particulièrement réceptifs à *M. bovis* (Nugent *et al.*, 2002). La présence de bactéries viables de *M. bovis* est plus probable dans des lésions abcédées que dans des lésions caséo-calcaires. Ainsi, la contamination des charognards serait plus facile à partir des cadavres, carcasses ou viscères de cerfs élaphe qu'à partir des cadavres de sangliers. La contamination des cerfs élaphe à partir de cette même source n'est pas non plus à exclure. En effet, le comportement « exploratoire » des cerfs

élaphe signalé dans d'autres études pourraient les mettre au contact de ces matériaux (Sauter et Morris, 1995). En outre, des foyers de tuberculose d'origine inconnue dans les élevages bovins près de la forêt de Brotonne pourraient être dus au contact avec des cerfs infectés. En conséquence, le cerf élaphe peut être considéré comme réservoir de l'infection et de futures transmissions aux bovins ne peuvent pas être exclues. Les cerfs et les bovins partagent souvent les mêmes pâturages en lisière de la forêt de Brotonne. Il est probable que l'infection a été originellement transmise à partir des bovins, l'hôte naturel et le plus abondant de *M. bovis*, vers les cerfs élaphe, quand la prévalence de l'infection était élevée dans le bétail de la région ; l'infection se serait alors ensuite propagée dans la population de cerfs élaphe.

En ce qui concerne le sanglier, la prédominance de lésions granulomateuses calcifiées dans cette espèce indiquerait une infection prolongée et chronique, ce qui suggère une réponse immunitaire appropriée et très peu de bacilles viables (Parra *et al.*, 2005). Les cochons marrons seraient même capables de résorber des lésions (Corner *et al.*, 1981; McInerney *et al.*, 1995). Ces caractéristiques s'appliqueraient à des espèces dont le rôle dans la dissémination de l'infection n'est pas considéré fondamental. Dans notre étude, l'absence de maladie généralisée et les caractéristiques des lésions trouvées chez les sangliers irait dans le même sens de cette observation. Néanmoins, si l'on prend en compte le fait que le nombre de sangliers infectés dans les échantillons est élevé, même si leur sélection a été biaisée, et que les jeunes sont aussi infectés, la dissémination intra-spécifique de l'infection ne peut pas être exclue. La présence de lésions macroscopiques ainsi que l'isolement de *M. bovis* des lésions pulmonaires ou des nœuds lymphatiques pulmonaires chez quelques sangliers inspectés dans les forêts de Brotonne et de Mauny pourrait appuyer cette hypothèse. La transmission de *M. bovis* des sangliers aux cerfs élaphe, voire aux bovins, semble plus difficile. Elle pourrait se produire si les cerfs ou les bovins « inspectaient » de très près des carcasses ou des viscères de sangliers chassés, en particulier ceux présentant des lésions indiquant une maladie généralisée. Ceci est peu probable puisque dans notre étude aucun sanglier n'a présenté des signes de maladie généralisée (score 4). En outre, la transmission de l'infection des sangliers vivants aux cerfs élaphe ou aux bovins semble improbable à cause de l'absence de contact entre eux. Ceci souligne l'importance d'enlever les viscères des animaux chassés. En conclusion, bien que la transmission de l'infection au sein de la population de sangliers des forêts de Brotonne et de Mauny semble plausible, la propagation à partir de cette espèce vers d'autres espèces est probablement négligeable. Des enquêtes successives avec des

échantillons aléatoires de sangliers seront néanmoins nécessaires pour suivre l'évolution de la maladie au fil du temps chez le sanglier afin de définir son rôle épidémiologique.

Les très faibles prévalences constatées dans les populations de chevreuils et de renards indiquent que ces espèces sont des réservoirs accidentels. La transmission indirecte à partir de sources environnementales telles que les pâtures, la terre et les fèces ne peut pas être écartée. Cependant, d'après Morris *et al.* (Morris *et al.*, 1994), dans différents milieux, ces sources d'infection seraient faibles par rapport à d'autres mécanismes de transmission. Des résultats bactériologiques préliminaires à partir d'échantillons de l'environnement des forêts de Brotonne et de Mauny (terre et fèces de sangliers et cerfs élaphe) ont été négatifs à *M. bovis* (Boschioli, M. L. communication personnelle). La transmission à partir de la nourriture contaminée aurait pu se produire chez les cerfs élaphe avant l'interdiction de l'affouragement supplémentaire à la fin de 2002, comme cela a été aussi évoqué pour les cerfs de Virginie au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) (Schmitt *et al.*, 1997).

La fréquence des lésions macroscopiques par type de nœud lymphatique s'est avérée différente chez les cerfs élaphe et les sangliers lors de la deuxième enquête. Soixante dix pour cent des cerfs infectés ont présenté des lésions dans les nœuds lymphatiques rétropharyngiens, pulmonaires ou mésentériques et seul un de ces animaux n'avait pas de lésions dans les ganglions mésentériques. De plus, 37% des animaux infectés avec des lésions présentaient ces lésions exclusivement au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques. Chez les sangliers infectés présentant des lésions au niveau d'au moins un des trois ganglions lymphatiques, 94% avait des lésions dans les nœuds lymphatiques rétropharyngiens. Parmi ces derniers, 76% ne présentaient pas des lésions dans les nœuds lymphatiques pulmonaires ou mésentériques. En outre, pour les deux espèces, la meilleure concordance entre la présence de lésions macroscopiques et la culture à *M. bovis* a été obtenue à partir des ganglions lymphatiques qui présentaient le plus souvent des lésions. Ce fait suggère que les nœuds lymphatiques rétropharyngiens chez les sangliers et les nœuds lymphatiques mésentériques chez les cerfs élaphe sont les principaux sites lymphatiques de multiplication de *M. bovis*. Lorsque l'analyse a été effectuée par classe d'âge, la valeur kappa a été plus élevée chez les cerfs élaphe adultes à partir des nœuds lymphatiques mésentériques (90%) tandis qu'elle a été moins élevée à partir des nœuds lymphatiques rétropharyngiens chez les sangliers adultes (55,2%). Cette variabilité dans les résultats selon l'âge pourrait être due à une différence d'évolution de la maladie dans les deux espèces. Chez les cerfs élaphe, la probabilité

d'acquérir l'infection augmente avec l'âge, la tuberculose bovine étant une maladie chronique peu létale. Il est aussi possible que le statut immunitaire se dégrade avec l'âge, ce qui rendrait plus probable la présence des lésions et de *M. bovis* viables. En revanche, chez les sangliers, la valeur moins élevée du kappa chez les adultes pourrait indiquer un contrôle de l'infection dans les lésions chroniques ou même une élimination de la mycobactérie dans les lésions chroniques avec l'âge.

D'après certains auteurs, il y aurait un lien entre la voie de transmission et les nœuds lymphatiques ou les organes présentant des lésions plus fréquemment (Biet *et al.*, 2005). Néanmoins, ce lien n'est pas simple à établir. Chez les porcs, les nœuds lymphatiques rétropharyngiens reçoivent des vaisseaux afférents de la langue, du palais, de la partie postérieure de la cavité nasale, du larynx et des vaisseaux efférents des nœuds lymphatiques mandibulaires (Sisson et Grossman, 1959). Dans ce sens, la présence plus importante de lésions tuberculeuses au niveau des nœuds lymphatiques rétropharyngiens chez les sangliers dans notre étude indiquerait une voie de transmission orale ou aérogène. En considérant le contexte épidémiologique, la transmission orale par consommation de cadavres serait la plus probable mais une transmission aérogène au sein de cette espèce ne peut pas être exclue. En ce qui concerne le cerf élaphe, la prédominance de lésions dans les nœuds lymphatiques mésentériques observée dans notre étude indiquerait plutôt une transmission orale. Cependant, l'explication de la présence de lésions principalement dans les nœuds lymphatiques mésentériques n'est pas évidente. On pourrait faire l'hypothèse qu'elles sont apparues par infection orale lors du léchage ou de mordillements sociaux mais on ne dispose pas de preuves. La transmission orale de *M. bovis* par la nourriture avant l'interdiction de l'affouragement ne peut pas être exclue non plus. La plupart des cerfs présentant des lésions au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques et aucune lésion au niveau des organes ou autres ganglions lymphatiques sont des adultes qui auraient pu être infectés avant cette interdiction. Une autre possibilité est que la présence de lésions dans les nœuds lymphatiques mésentériques serait le reflet d'une généralisation de la maladie alors que chez les sangliers ces lésions seraient absentes à cause de leur relative résistance et de leur aptitude à faire disparaître l'infection. Par conséquent, la différence dans la distribution de lésions dans les nœuds lymphatiques chez les cerfs élaphe et les sangliers pourrait obéir à une pathogenèse différente de l'infection à *M. bovis* dans chaque espèce et la voie de transmission ne serait pas le seul élément à prendre en compte. Les mécanismes expliquant la pathogenèse de la

maladie dans ces deux espèces ne sont pas clairs et des études ultérieures seraient nécessaires pour tenter d'éclaircir cet aspect.

Le foyer de tuberculose à *M. bovis* dans les forêts de Brotonne et de Mauny est le seul qui ait été signalé dans la faune sauvage en France à ce jour. Dans d'autres zones où des foyers bovins d'origine inconnue se sont produits, des recherches menées dans la faune sauvage n'ont pas permis de détecter une circulation significative de *M. bovis* (Hars *et al.*, 2006). Le fait que dans les mêmes conditions épidémiologiques la maladie n'ait pas été transmise de manière effective des animaux domestiques aux animaux sauvages pourrait indiquer qu'une telle transmission est un événement rare. Une densité importante des cerfs élaphe dans les forêts de Brotonne et de Mauny aurait pu favoriser l'introduction et le maintien de la maladie en considérant que la population d'ongulés en France est en constante augmentation depuis une dizaine d'années (ONCFS, 2006). Le seuil de densité pour l'entretien de la tuberculose chez les cerfs élaphe sauvages en Nouvelle Zélande a été estimé à 15 animaux au km<sup>2</sup> (Nugent, 2004) ; il est loin d'être atteint dans les forêts de Brotonne et de Mauny (densité estimée à moins de 5 animaux au km<sup>2</sup>). Cependant, les comptages de cerfs élaphe au phare ainsi que les tableaux de chasse indiquent que la population a augmenté entre 1994 et 2001. Cette augmentation aurait pu favoriser l'installation de l'infection à *M. bovis* dans une population « fermée » puisque la migration d'animaux à partir ou vers les forêts de Brotonne et de Mauny n'est pas très probable pour des raisons géographiques. Par ailleurs, le rôle de facteurs génétiques dans la résistance ou la sensibilité à la tuberculose a été montré chez le cerf élaphe de façon expérimentale (Mackintosh *et al.*, 2000) et dans des populations de sangliers en Espagne (Acevedo-Whitehouse *et al.*, 2005). Il ne peut pas pas être exclu que dans les forêts de Brotonne et de Mauny des accouplements consanguins aient pu favoriser l'émergence d'animaux plus sensibles à la tuberculose. La combinaison de ces facteurs environnementaux, démographiques et génétiques pourrait expliquer l'apparition de ce foyer dans cette zone géographique de la France.

**MODELE DE TRANSMISSION DE LA TUBERCULOSE DANS  
LES POPULATIONS DE CERFS ELAPHES ET DE  
SANGLIERS DES FORETS DE BROTONNE ET DE MAUNY**

### **3. MODELE DE TRANSMISSION DE LA TUBERCULOSE DANS LES POPULATIONS DE CERFS ELAPHES ET DE SANGLIERS DES FORETS DE BROTONNE ET DE MAUNY**

#### **3.1. Introduction**

La modélisation a été utilisée en tant qu'outil pour décrire et prédire la dynamique et les résultats d'une grande variété de processus biologiques et écologiques, la transmission des maladies infectieuses incluse (Murray, 2002). Un certain nombre de modèles mathématiques ont été développés pour représenter la transmission de la tuberculose bovine et évaluer certaines mesures de contrôle de la maladie dans des espèces sauvages, notamment chez les blaireaux, les possums et les cerfs de Virginie (Smith, 2001). La plupart de ces modèles ne considéraient qu'un seul hôte de la mycobactérie.

Les études épidémiologiques concernant le premier foyer de tuberculose bovine dans la faune sauvage en France ont permis d'aboutir à des hypothèses plausibles quant à l'interaction des deux espèces impliquées, le cerf élaphe et le sanglier, mais également sur la transmission de la maladie et sur son origine. Le typage moléculaire de la souche de *M. bovis* isolée a permis d'établir qu'elle était la même que celle qui circulait dans les foyers bovins des alentours des forêts de Brotonne et de Mauny, en Normandie, où le foyer est apparu. Les résultats de cette étude indiquaient que la souche en question circulait dans la zone depuis au moins 1995 (Zanella G. *et al.*, sous presse). Compte tenu que les premiers cas de la maladie chez les cerfs ont été constatés au début de l'année 2001 et que la tuberculose bovine est une maladie à évolution lente, la date d'introduction de l'infection dans la population de cerfs à partir des bovins pourrait remonter à 1995, voire avant. L'infection se serait ensuite répandue dans la population de sangliers par la consommation de cadavres, carcasses ou viscères de cerfs infectés. Les pourcentages de prévalence de l'infection ainsi que le type de lésions macroscopiques laissent supposer que la transmission par contact direct intra-espèce est plus importante parmi les cerfs que parmi les sangliers. La transmission à partir d'animaux morts infectés (cadavres, carcasses ou viscères) pourrait aussi se produire chez les cerfs par comportement exploratoire, auquel cas elle serait a priori plus importante s'il s'agissait de cerfs morts que de sangliers morts, du fait des différences dans la nature des lésions. La transmission pseudo-verticale, qui peut se produire par consommation de lait contaminé ou,

plus généralement, par contact étroit entre la mère et le nouveau-né, n'est finalement pas à exclure chez les cerfs élaphe et les sangliers.

Les mesures de contrôle du foyer appliquées à la fin de l'année 2002 incluaient entre autres une réduction de la taille des populations de cerfs et de sangliers et le ramassage et la destruction de viscères, cadavres et carcasses pendant les saisons de chasse. Bien que respectée, cette dernière mesure n'a pas été appliquée de manière exhaustive et l'on ne peut pas affirmer que la transmission à partir d'animaux morts ait complètement disparu.

Dans cette partie nous avons repris les résultats des enquêtes épidémiologiques et les hypothèses concernant la transmission de l'infection pour bâtir un modèle mathématique qui tient compte de la transmission inter et intra-espèce de *M. bovis* chez les cerfs et les sangliers ainsi que des conclusions des enquêtes épidémiologiques, en ajustant les paramètres de transmission aux données de terrain. Nous avons cherché à bâtir un modèle simple, en ne prenant par exemple pas en compte les structures sociales (hardes) à cause de l'absence de données précises sur la dynamique des populations de cerfs et de sangliers dans les forêts de Brotonne et de Mauny. Dans un premier temps nous avons estimé les coefficients de transmission de la maladie en utilisant les résultats des enquêtes. Nous avons ensuite testé différents scénarios de mesures de contrôle en utilisant ces paramètres. Cette étude prospective nous a permis d'étudier de façon qualitative l'importance relative des mesures de contrôle envisageables pour contrôler l'infection.

## **3.2. Matériel et méthodes**

### **3.2.1. Modèle**

Le modèle mathématique appliqué aux cerfs et aux sangliers est un modèle déterministe à temps discret qui tient compte tant de la transmission intra-espèce de la tuberculose que de sa transmission inter-espèce. Le pas de temps a été fixé à un an ; il débute avec les naissances et se conclut avec la saison de chasse.

#### **3.2.1.1. Hypothèses biologiques**

Le modèle incorpore les éléments majeurs de la dynamique de populations de cerfs et de sangliers (reproduction et mortalité), ainsi que les résultats des analyses épidémiologiques sur la tuberculose bovine chez les cerfs élaphe et les sangliers dans les forêts de Brotonne et de

Mauny (nature des lésions observées, existence de variations selon le sexe, etc.) et des mesures de contrôle mises en place (ramassage des viscères).

#### a) Dynamique de population

(i) Des études montrent que le taux de natalité (nombre de nouveau-nés sur l'ensemble de femelles en âge de reproduction par année) chez les cerfs élaphe est densité-dépendant (Albon *et al.*, 2000). La même hypothèse a été faite chez les sangliers.

(ii) Les biches peuvent commencer à se reproduire entre 15 à 24 mois (Peyre-Mandras, 1990) et les laies entre 8 et 24 mois. Nous avons pris deux ans comme l'âge à partir de laquelle les femelles peuvent se reproduire chez les deux espèces.

(iii) Les forêts de Brotonne et de Mauny sont délimitées par des frontières naturelles (la Seine) ou artificielles (l'autoroute) et l'immigration ou émigration d'animaux sont considérées négligeables. Les populations de cerfs et sangliers du modèle sont donc des populations fermées.

(iv) Les taux de mortalité des deux espèces ne recouvrent que la mortalité due à la chasse. Par rapport à celle-ci, la mortalité naturelle et celle due à la maladie sont considérées comme négligeables.

#### b) Principes généraux de transmission de l'infection

(i) En considérant que les cerfs et les sangliers se regroupent dans des groupes sociaux, le taux de contact entre individus sensibles et infectieux est supposé constant et indépendant de la densité spatiale d'animaux chez les deux espèces. La fonction de transmission de la tuberculose est donc de type fréquence-dépendant.

(ii) On suppose que la transmission de l'infection se fait selon un mélange homogène des individus des deux espèces. Un effet dû au regroupement social n'est donc pas considéré.

(iii) La période de latence (période entre l'infection et le début de l'excrétion de *M. bovis*) dure un an

#### c) Résultats des études épidémiologiques en forêt de Brotonne

(i) Lors des enquêtes épidémiologiques dans les forêts de Brotonne et de Mauny, aucune différence de pourcentage de prévalence de l'infection n'a été constaté selon le sexe ni chez les cerfs ni chez les sangliers. En conséquence le sexe n'est pas pris en compte dans le modèle.

(ii) De par leur comportement, le contact entre cerfs et sangliers serait rare. En conséquence, on suppose que la contagion par contact direct ne peut se produire qu'entre les animaux vivants de la même espèce. Les pourcentages de prévalence de l'infection ainsi que le type de lésions macroscopiques laissent supposer que la transmission par aérosols ou contact direct intra-espèce est plus important entre cerfs qu'entre sangliers.

(iii) La contagion peut se produire par contact avec des cadavres, carcasses et principalement des viscères contaminés (on parlera de viscères par la suite) de la même espèce ou de l'autre espèce.

(iv) Le ramassage et la destruction de viscères, introduits en tant que mesures de contrôle, n'ont pas été respectés à 100% et de ce fait, même si la contagion par cette voie a diminué de façon importante à partir de la saison de chasse 2002/2003, une contagion résiduelle par cette voie persiste.

(v) Les résultats bactériologiques obtenus à partir d'échantillons de l'environnement (terre et fèces de sangliers et cerfs élaphe) ont été négatifs pour *M. bovis*. La survie de *M. bovis* dans l'environnement est donc supposé négligeable par rapport aux autres formes de transmission et ne sera pas prise en compte.

### 3.2.1.2. Variables d'état

Une population d'une espèce donnée  $A$  est représentée par une variable d'état à deux dimensions  $Y$  (classe d'âge) et  $Z$  (état de santé) :

$Y = \{1, 2, 3\}$  où 1 = animaux de moins d'un an, 2 = animaux entre 1 an et 2 ans et 3 = animaux de plus de 2 ans.

$Z = \{S, E, I\}$  où S = animaux sensibles, E = animaux infectés non excréteurs et I = animaux infectés excréteurs.

On notera  $A_t(y, z)$  le nombre d'animaux de l'espèce  $A$  de classe d'âge  $y$  qui sont dans un des trois états de santé au temps  $t$ . Ainsi,  $A_t(1, S)$  indique le nombre d'animaux de l'espèce  $A$ , de moins d'un an, sensibles au temps  $t$ .

Dans les sommes on remplace les indices par des points. Ainsi,  $\sum A_t(., I)$  représente le nombre total d'animaux infectieux, additionnés sur toutes les classes d'âge.

### 3.2.1.3. Description du modèle

#### a) Dynamique de population

Selon un modèle de croissance logistique de la population qui tient compte de la capacité de charge du milieu, le taux de natalité (nombre de nouveau-nés sur l'ensemble de femelles en âge de reproduction par année) pour l'espèce  $A$  au temps  $t$ ,  $\lambda_{At}$ , dépend du taux de natalité optimal  $\gamma_A$  (nombre de nouveau-nés maximal par femelle de l'espèce  $A$  dans les meilleures conditions de reproduction), de la taille de la population de l'espèce  $A$  ( $\sum A_t(., .)$ ) et de la capacité de charge de l'habitat pour cette espèce  $K_A$  (Renshaw, 1991):

$$\lambda_{At} = \gamma_A (1 - \sum A_t(.,.) / K_A) \quad (1)$$

Le taux de mortalité varie selon l'espèce et la classe d'âge et sera noté  $\mu_{A(y)}$  pour l'espèce  $A$  et la classe d'âge  $y$ .

L'introduction ou sortie d'animaux par émigration ou immigration sont considérés nuls.

#### b) Dynamique de l'infection

On distingue dans le modèle trois modes de contagion :

- La contagion pseudo-verticale :

La force d'infection exercée sur les nouveau-nés varie selon le temps et dépend du coefficient de transmission pseudo-verticale spécifique de l'espèce  $A$  ( $\nu_A$ ), et de la proportion de femelles reproductrices infectées excrétrices de l'espèce  $A$ , qui sont des individus de la classe d'âge 3 ( $V_{At}$ ).

$$V_{At} = \frac{A_t(3,I)}{\sum A_t(3,.)}$$

- La contagion par contact direct avec des animaux vivants :

La force d'infection exercée sur des animaux de l'espèce  $A$  par les animaux de la même espèce  $A$  dépend d'un paramètre de transmission ( $\beta_{AA}$ ) et de la proportion d'animaux infectés

excréteurs  $H_{At}$  dans l'espèce  $A$ . Le paramètre de transmission  $\beta_{AA}$  est supposé indépendant de l'âge.

$$H_{At} = \frac{\sum A_t(.,I)}{\sum A_t(.,.)}$$

- La contagion par contact avec des viscères :

La contagion de l'espèce  $A$  par contact avec des viscères contaminés de l'espèce  $X$  (l'espèce  $X$  pouvant désigner la même espèce  $A$  ou une autre espèce  $B$ ) dépend d'un paramètre spécifique du couple d'espèces considéré ( $\varphi_{XA}$ ) et de la proportion d'animaux infectés excréteurs  $J_{Xt}$  parmi les morts de l'espèce  $X$ . Les animaux morts de moins d'un an sont nés, au début du pas de temps, des femelles reproductrices. On suppose que le sexe ratio est de 1 :1. Le nombre de femelles reproductrices correspond donc à la moitié des animaux de classe d'âge 3, et le nombre de faons nés est donc  $1/2\lambda_{Xt}X_t(3,.)$ .

$$J_{Xt} = \frac{\sum \frac{1}{2}\mu_{X(1)}\lambda_{Xt}X_t(3,I) + \sum \mu_{X(2)}X_t(1,I) + \sum \mu_{X(3)}(X_t(2,I) + X_t(3,I))}{\sum \frac{1}{2}\mu_{X(1)}\lambda_{Xt}X_t(3,.) + \sum \mu_{X(2)}X_t(1,.) + \sum \mu_{X(3)}(X_t(2,.) + X_t(3,.))}$$

La dynamique de la tuberculose est décrite par des transitions entre des paires d'états au moyen d'équations aux différences. A chaque pas de temps la maladie évolue et des animaux naissent et meurent. Ces différents processus sont représentés par les équations suivantes pour une population donnée, de l'espèce  $A$ .

#### Animaux de moins d'un an

Les animaux de moins d'un an au temps  $t+1$  sont ceux qui sont nés de femelles de plus de 2 ans (classe d'âge 3) au début du pas de temps  $t$  et qui n'ont pas été abattus lors de la saison de chasse qui se déroule à la fin du pas de temps  $t$  ( $1-\mu_{A(1)}$ ). Ils peuvent être sensibles, ou infectés non excréteurs s'ils ont été contaminés au cours du pas de temps.

$$A_{t+1}(1,S) = \frac{1}{2}(1-r_{At})\sum A_t(3,.)\lambda_{At}(1-\mu_{A(1)})$$

$$A_{t+1}(1,E) = \frac{1}{2}r_{At}\sum A_t(3,.)\lambda_{At}(1-\mu_{A(1)})$$

où  $r_{At}$  est la probabilité combinée d'infection pseudo-verticale, par contact direct avec des animaux vivants de la même espèce  $A$  ou par contact avec des animaux morts de la même espèce  $A$  ou d'une autre espèce  $B$  :

$$r_{At} = 1 - e^{-v_A V_{At} - (\beta_{AA} H_{At} + \varphi_{AA} J_{At} + \varphi_{BA} J_{Bt})}$$

### Animaux entre 1 et 2 ans

Les animaux entre 1 et 2 ans de l'espèce  $A$  au temps  $t+1$  sont ceux qui avaient 1 an au temps  $t$  et qui ont échappé à la saison de chasse ( $1-\mu_{A(2)}$ ). Ceux qui sont infectés non excréteurs au temps  $t+1$  ont été infectés par contact direct avec des animaux vivants ou par contact avec des animaux morts au pas de temps  $t$ . Les animaux infectés excréteurs au temps  $t+1$  sont ceux qui ont été infectés non excréteurs au pas de temps précédent.

$$A_{t+1}(2, S) = (1 - p_{At}) A_t(1, S)(1 - \mu_{A(2)})$$

$$A_{t+1}(2, E) = p_{At} A_t(1, S)(1 - \mu_{A(2)})$$

$$A_{t+1}(2, I) = A_t(1, E)(1 - \mu_{A(2)})$$

où  $p_{At}$  est la probabilité d'infection par contact direct avec des animaux vivants de l'espèce  $A$  ou par contact avec des animaux morts de l'espèce  $A$  ou  $B$  :

$$p_{At} = 1 - e^{-(\beta_{AA} H_{At} + \varphi_{AA} J_{At} + \varphi_{BA} J_{Bt})}$$

### Animaux de plus de 2 ans

Les animaux de plus de 2 ans de l'espèce  $A$  au temps  $t+1$  sont ceux qui avaient entre 1 et 2 ans ou plus au temps  $t$  et qui ont échappé à la saison de chasse ( $1-\mu_{A(3)}$ ). Les infectés non excréteurs ont été infectés par contact direct avec des animaux vivants ou par contact avec des animaux morts au pas de temps  $t$  tandis que les infectés excréteurs sont ceux qui étaient infectés non excréteurs ou infectés excréteurs au pas de temps précédent.

$$A_{t+1}(3, S) = (1 - p_{At})(A_t(2, S) + A_t(3, S))(1 - \mu_{A(3)})$$

$$A_{t+1}(3, E) = p_{At}(A_t(2, S) + A_t(3, S))(1 - \mu_{A(3)})$$

$$A_{t+1}(3, I) = (A_t(2, E) + A_t(2, I) + A_t(3, E) + A_t(3, I))(1 - \mu_{A(3)})$$

## 3.2.2. Méthodes

### 3.2.2.1. Paramètres

Les paramètres de dynamique de population des cerfs élaphe et des sangliers ont été tirés de la littérature et des tableaux de chasse disponibles de 1994 à 2006 pour les forêts de Brotonne et de Mauny. Bien que des comptages de cerfs dans ces forêts aient été réalisés, ils ne permettaient pas de calculer une taille de population. En conséquence, nous avons estimé des tailles de population de cerfs et de sangliers en considérant qu'elles étaient à l'équilibre avant la date de mise en place des mesures de contrôle.

Les données des enquêtes épidémiologiques lors des saisons de chasse 2001/2002, 2005/2006 et 2006/2007 ont été utilisées pour estimer les paramètres épidémiologiques.

#### a) Données

Les valeurs des taux de natalité sont décrites dans le tableau XIV et celles des tableaux de chasse et des pourcentages de prévalence dans les tableaux XV et XVI, respectivement. Chez les cerfs, des naissances de jumeaux sont signalées mais elles restent quand même rares et nous avons retenu un taux de natalité optimal de 1.

**Tableau XIV. Valeurs de taux de natalité et de fécondité optimale signalés dans la littérature pour les cerfs élaphe et les sangliers**

Espèce	Paramètre	Description	Valeur	Référence
Cerf élaphe	$\lambda_{cerf}$	Taux de natalité	0,7	(Clutton-Brock <i>et al.</i> , 1982)
	$\gamma_{cerf}$	Taux de natalité optimal	1	(Mardyla, 1981)
Sanglier	$\lambda_{sanglier}$	Taux de natalité	5,8	(Baubet <i>et al.</i> , 2004)
	$\gamma_{sanglier}$	Taux de natalité optimal	7	(Baubet <i>et al.</i> , 2004)

Les tableaux de chasse dans les forêts de Brotonne et de Mauny distinguent chez les cerfs l'âge (animaux de moins et de plus d'un an) et le sexe des animaux de plus d'un an. Puisque le sexe n'est pas pris en compte dans le modèle, les données sont présentées pour les animaux de plus d'un an dans son ensemble. Pour les sangliers aucune distinction par âge ou par sexe

n'est faite lors de l'enregistrement des données sur les tableaux de chasse. Ces chiffres incluent aussi les animaux qui ont été trouvés morts ou ceux qui ont été saisis.

**Tableau XV. Tableaux de chasse des cerfs élaphe et des sangliers entre 1994 et 2007 dans les forêts de Brotonne et de Mauny**

Saison de chasse	Espèce			
	Cerfs élaphe			Sangliers
	≤ 1 an	>1 an	Total	
1994/1995	10	63	73	316
1995/1996	13	59	72	305
1996/1997	16	64	80	432
1997/1998	21	64	85	427
1998/1999	46	99	145	475
1999/2000	46	101	147	359
2000/2001	45	130	175	468
2001/2002	39	106	145	416
2002/2003	33	100	133	421
2003/2004	43	120	163	335
2004/2005	29	116	145	315
2005/2006	30	119	149	462
2006/2007	34	138	172	772

Les résultats des enquêtes mises en place lors des saisons de chasse 2001/2002 et 2005/2006 ont été utilisés. Lors de ces enquêtes l'échantillon de sangliers était fort probablement biaisé et des bornes inférieures et supérieures du pourcentage de prévalence de l'infection ont été calculées en prenant comme dénominateurs le nombre total d'animaux chassés (borne inférieure) et le nombre d'animaux échantillonnés (borne supérieure). Lors de l'enquête mise en place pour la saison de chasse 2006/2007, seul le pourcentage de prévalence de lésions macroscopiques (0,1) chez les cerfs était disponible, sans distinction d'âge. Un calcul du pourcentage de prévalence réelle de l'infection à partir de ce pourcentage de prévalence apparent a été réalisé en utilisant les valeurs de sensibilité (Se) et de spécificité (Sp) de la présence de lésions macroscopiques, utilisée en tant qu'outil diagnostique, obtenues lors de l'enquête épidémiologique de 2005/2006 sur l'ensemble des animaux (Se=0,9 ; Sp=0,96). En

estimant le pourcentage réel de prévalence à partir des valeurs de Se, Sp et du pourcentage de prévalence apparente d'après la présence des lésions macroscopiques (Dohoo *et al.*, 2003) on obtient une valeur de 0,07. En 2006/2007 une estimation du pourcentage de prévalence de l'infection a été réalisée sur un échantillon représentatif de sangliers (205 animaux) avec un résultat de 0,32.

**Tableau XVI. Pourcentage de prévalence de l'infection à *M. bovis* chez les cerfs élaphe et les sangliers lors des trois enquêtes épidémiologiques dans les forêts de Brotonne et de Mauny**

Saison de chasse	Espèce			
	Cerfs		Sangliers	
	≤ 2 ans	>2ans	Borne inférieure	Borne supérieure
2001/2002	0,11	0,13	0,07	0,29
2005/2006	0,14	0,32	0,14	0,42
2006/2007	0,07		0,32	

b) *Paramètres de dynamique de population*

Pour estimer les tailles des populations à l'équilibre on part du principe que le nombre d'animaux qui naissent est égal au nombre d'animaux qui meurent, qui correspond au nombre d'animaux chassés puisque la mortalité pour autres causes est considérée négligeable.

Nous avons utilisé les taux de naissance ( $\lambda$ ), les taux de natalité optimaux ( $\gamma$ ) (tableau XIV) et les tableaux de chasse moyen (tableau XV) afin d'estimer, pour des populations à l'équilibre, les valeurs des tailles de cohortes de naissance ( $n$ ), des tailles de population avant les naissances et après la chasse ( $N$ ), les taux de mortalité ( $\mu$ ) et les capacités de charge ( $K$ ) chez les cerfs et les sangliers. Les tableaux de chasse moyens ont été calculés en ne prenant en compte que les années précédant les mesures de contrôle de 2001/2002 (tableau XV) :

- cerfs : 29,5 faons de moins de 1 an et 85,8 animaux de plus d'1 an
- sangliers : 399,8 animaux.

- Taux de mortalité

Soient  $\mu_{(1)}$ ,  $\mu_{f(2)}$  et  $\mu_{(3)}$  les taux de mortalité dus à la chasse chez les animaux de classe d'âge 1, 2 et 3, respectivement. Chez les cerfs, les tableaux de chasse ne font pas de distinction des

animaux entre 1 et 2 ans. On considère donc que,

$$\mu_{(2)} = \mu_{(3)}$$

Chez les sangliers, aucune distinction d'âge n'est faite dans les tableaux de chasse et en conséquence, on pose :

$$\mu_{(1)} = \mu_{(2)} = \mu_{(3)} = \mu.$$

- Taille des cohortes de naissance

Soit  $n$  le nombre de nouveau-nés de l'année, chez les cerfs, quand la population est à l'équilibre :

$$n = L + M \tag{2}$$

où  $L$  est le nombre de cerfs chassés nés dans l'année et  $M$  celui des autres cerfs chassés.

Quand les laies sont tuées lors de la chasse des sangliers, les nouveau-nés qui les accompagnent sont également tués par les chiens et ne sont pas comptabilisés dans les tableaux de chasse. Les marcassins meurent donc avec le même taux de mortalité  $\mu$  que les mères et  $n(1-\mu)$  survivent. D'où, si  $S$  désigne le tableau de chasse des sangliers quand la population est à l'équilibre :

$$n = S/(1-\mu)$$

- Taille de la population avant les naissances et après la chasse

Les populations avant les naissances et après la chasse sont déduites d'après les équations suivantes :

Classe d'âge	Nombre d'animaux avant la chasse	Nombre d'animaux chassés
Nouveau-nés	$n$	$n\mu_{(1)}$
1	$n(1-\mu_{(1)})$ (3)	$n\mu_{(2)}(1-\mu_{(1)})$
2	$n(1-\mu_{(1)})(1-\mu_{(2)})$ (4)	$n\mu_{(3)}(1-\mu_{(1)})(1-\mu_{(2)})$
3	$n(1-\mu_{(1)})(1-\mu_{(2)})\sum_{i=1}^{\infty}(1-\mu_{(3)})^i =$ $[n(1-\mu_{(1)})(1-\mu_{(2)})(1-\mu_{(3)})]/\mu_{(3)}$ (5)	$n(1-\mu_{(1)})(1-\mu_{(2)})(1-\mu_{(3)})$

La taille  $N$  de la population après la chasse et avant les naissances est égale à la somme de (3), (4) et (5) :

$$N = n(1 - \mu_{(1)}) \left( 1 + \frac{(1 - \mu_{(2)})}{\mu_{(3)}} \right) \quad (6)$$

Chez les cerfs, puisque  $\mu_{(2)} = \mu_{(3)}$ , on obtient :

$$N = \frac{n(1 - \mu_{(1)})}{\mu_{(2)}}$$

Pour calculer cette quantité il faut donc calculer  $\mu_{(1)}$  et  $\mu_{(2)}$ . Etant donné que :

$$L = n\mu_{(1)} \quad (7)$$

d'après (2) et (7) on a :

$$\mu_{(1)} = \frac{L}{L + M}$$

D'autre part, en supposant que la population de femelles reproductrices correspond à la moitié de la population d'animaux de classe d'âge 3 (c'est à dire que le sexe ratio est de 1:1), on peut appliquer le taux de natalité  $\lambda$  à cette population (équation 5) pour calculer le nombre de faons nés chaque année. En prenant compte l'égalité  $\mu_{(2)} = \mu_{(3)}$ , on obtient l'équation ci-dessous, qui permet de calculer  $\mu_{(2)}$  en fonction de  $\mu_{(1)}$  et de  $\lambda$  :

$$n = \frac{1/2\lambda n(1 - \mu_{(1)})(1 - \mu_{(2)}^2)}{\mu_{(2)}} \quad (8)$$

Chez les sangliers, puisque  $\mu_{(1)} = \mu_{(2)} = \mu_{(3)} = \mu$ , les équations 6 et 8 deviennent :

$$N = \frac{n(1 - \mu)}{\mu}$$

$$n = \frac{1/2\lambda n(1 - \mu)^3}{\mu}$$

Cette dernière équation permet de calculer le taux de mortalité  $\mu$  chez le sanglier quand la population est à l'équilibre, en fonction du taux de natalité.

- Capacité de charge

D'après (1), la capacité de charge  $K$  est :

$$K = \frac{N\gamma}{\gamma - \lambda}$$

c) *Paramètres de dynamique de l'infection*

Le modèle incorpore huit coefficients de transmission selon le type de contagion et l'espèce impliquée (un coefficient de transmission directe et un coefficient de transmission pseudo-verticale par espèce et quatre coefficients de transmission par les cadavres). Cependant, les hypothèses suggérées par les résultats des enquêtes épidémiologiques sur les modalités de transmission dans les deux espèces considérées permettent de simplifier ce paramétrage en liant certains coefficients de transmission entre eux.

Le type de lésions observées chez les sangliers (caséocalcaires) ainsi que leur distribution (principalement au niveau des ganglions rétropharyngiens) laissent supposer que la contagiosité des animaux vivant et des viscères de cerfs est plus importante que celle des sangliers. L'espèce concernée est donc un déterminant important du pouvoir infectieux d'un animal infecté, envisagé comme une source de bacilles. Ceci amène à lier les paramètres de transmission à partir de sangliers avec les paramètres de transmission à partir des cerfs, en utilisant un coefficient de proportionnalité unique  $k_1$  :

$$\beta_{\text{sanglier sanglier}} = k_1 \beta_{\text{cerf cerf}}$$

$$\nu_{\text{sanglier}} = k_1 \nu_{\text{cerf}}$$

$$\varphi_{\text{sanglier cerf}} = k_1 \varphi_{\text{cerf cerf}}$$

$$\varphi_{\text{sanglier sanglier}} = k_1 \varphi_{\text{cerf sanglier}}$$

De par leur régime alimentaire, on suppose que les sangliers peuvent se contaminer plus facilement que les cerfs au contact de sangliers ou de cerfs morts. L'espèce concernée est donc également un déterminant important du contact entre un animal sain et une source de bacilles. Ceci conduit à introduire un second coefficient de proportionnalité  $k_2$  :

$$\varphi_{\text{sanglier sanglier}} = k_2 \varphi_{\text{sanglier cerf}}$$

$$\varphi_{\text{cerf sanglier}} = k_2 \varphi_{\text{cerf cerf}}$$

Ce sont donc cinq paramètres qui ont été estimés ( $\beta_{cerf\ cerf}$ ,  $\nu_{cerf}$ ,  $\varphi_{cerf\ cerf}$ ,  $k_1$  et  $k_2$ ) à partir des résultats des enquêtes de prévalence.

Dans un premier temps nous avons estimé les cinq paramètres de transmission de l'infection. Nous avons fait tourner le modèle à partir de l'introduction de l'infection chez les cerfs jusqu'en 2006 en prenant comme situation initiale les tailles estimées des populations à l'équilibre pour les cerfs et les sangliers. A la date d'introduction de la tuberculose un cerf infecté de la classe d'âge 3 a été inséré dans le modèle. Entre cette date et avant la date de mise en oeuvre des mesures de contrôle (2002/2003) les taux de mortalité obtenus à partir du calcul de la population à l'équilibre ont été appliqués. A partir de cette date et jusqu'en 2006 le nombre réel d'animaux chassés a été utilisé. Par ailleurs, l'efficacité des mesures de ramassage des viscères a été prise en compte en réduisant, à partir de 2002/2003, les taux de transmission par les cadavres  $\varphi_{AB}$  d'un coefficient  $\varphi_{min} < 1$ . En utilisant la fonction *nlinb* de R (GNU project, Free Software Foundation) nous avons cherché à minimiser la somme des carrés des écarts entre les valeurs des pourcentages de prévalence observés lors des enquêtes épidémiologiques des saisons de chasse 2001/2002, 2005/2006, 2006/2007 et les valeurs des pourcentages de prévalence prédits par le modèle pour ces mêmes années. La fonction *nlinb* permet de trouver l'ensemble de paramètres optimaux qui permettent cette minimisation en réalisant plusieurs itérations. Les valeurs extrêmes de cette recherche ont été fixées à 0 et 100 pour chacun des cinq paramètres, et les itérations ont débuté à partir des valeurs tirées au sort de ces cinq paramètres entre 0 et 1. Plusieurs de ces valeurs initiales aléatoires ont été utilisées afin de vérifier empiriquement la convergence du modèle vers un point unique.

### 3.2.2.2. Exploitation

#### a) Scénarios rétrospectifs et estimation des paramètres

En raison de l'incertitude sur la date d'introduction de la tuberculose dans la population de cerfs nous avons pris en considération trois dates d'introduction plausibles d'un point de vue épidémiologique : 1985, 1990, et 1995.

Deux valeurs du paramètre d'efficacité des mesures de ramassage des viscères à partir de la saison de chasse 2002/2003 ( $\varphi_{min}$ ) ont été prises en compte : 0,01 et 0,1 : à partir de 2002/2003, on a donc supposé que les coefficients de transmission par les cadavres n'étaient

plus que 1% ou 10% de leurs valeur avant 2002/2003. L'estimation des paramètres de transmission a ainsi été réalisée pour six scénarios possibles en combinant les trois dates d'introduction de l'infection et les deux valeurs de  $\varphi_{min}$ .

La sélection du scénario rétrospectif le plus plausible (et du jeu de paramètres correspondant) a été basée sur l'adéquation entre l'allure des courbes des pourcentages de prévalence prédits par le modèle et les tendances observées, marquées par une stabilisation des pourcentages de prévalence à partir de 2001/2002.

#### b) Scénarios prospectifs et analyse des mesures de contrôle

Le modèle a été utilisé pour analyser l'évolution possible de la situation épidémiologique en fonction de différents scénarios portant à la fois sur le taux de mortalité et sur l'efficacité du ramassage des viscères des animaux chassés.

Trois hypothèses de mortalité ont été envisagées :

- abandon de toute sur-chasse et retour à la pression de chasse habituelle, correspondant aux taux de mortalité des populations à l'équilibre,
- éradication des cerfs et retour à la pression de chasse habituelle pour les sangliers,
- poursuite de la sur-chasse pour les deux espèces pendant cinq ans (à un niveau de pression de chasse identique à celui de 2006-2007), puis retour à une pression de chasse habituelle.

Trois niveaux de l'efficacité du ramassage des viscères ont été étudiés :

- ramassage parfait ( $\varphi_{min} = 0$ ),
- même niveau de ramassage que pendant les saisons de chasse 2001/2002 à 2006/2007 (qui correspond à la valeur de  $\varphi_{min}$  dans le scénario rétrospectif sélectionné),
- abandon du ramassage des viscères ( $\varphi_{min} = 1$ ).

Ce sont donc en tout neuf scénarios prospectifs qui ont été étudiés (tableau XIX), en prenant 2025 comme horizon de temps.

Le programme du modèle a été écrit avec R et apparaît dans l'annexe 6.2.

### 3.3. Résultats

#### 3.3.1. Paramètres de population à l'équilibre

Les valeurs estimées des paramètres de population pour les cerfs et les sangliers à l'équilibre sont décrites dans le tableau XVII. La taille de population, la capacité de charge et le taux de mortalité pour les sangliers sont plus élevés que ceux des cerfs.

**Tableau XVII. Paramètres démographiques estimés pour les cerfs élaphe et les sangliers**

Espèce	Paramètre	Description	Valeur
Cerf élaphe	$n_{cerf}$	Nombre de nouveau-nés	115
	$N_{cerf}$	Population après la chasse/avant les naissances	486
	$\mu_{cerf1}$	Taux de mortalité de la classe d'âge 1	0,26
	$\mu_{cerf2}$	Taux de mortalité des classes d'âge 2 et 3	0,18
	$K_{cerf}$	Capacité de charge pour les cerfs	1 619
Sanglier	$n_{sanglier}$	Nombre de nouveau-nés	739
	$N_{sanglier}$	Population après la chasse/avant les naissances	871
	$\mu_{sanglier}$	Taux de mortalité (animaux de tout âge)	0,46
	$K_{sanglier}$	Capacité de charge	5 080

#### 3.3.2. Paramètres de l'infection

Les estimations des paramètres de transmission pour chacun des six scénarios rétrospectifs envisagés d'après l'année d'introduction de l'infection dans la population de cerfs et les deux valeurs du paramètre  $\varphi_{min}$  se trouvent dans le tableau XVIII.

**Tableau XVIII. Paramètres de transmission estimés selon l'année d'introduction de l'infection et la valeur du coefficient de réduction de la transmission par les cadavres  $\varphi_{min}$  induite par les mesures de contrôle**

Année d'introduction	Paramètres					
	$\varphi_{min}$	$\beta_{cerf\ cerf}$	$\nu_{cerf}$	$\varphi_{cerf\ cerf}$	$k_1$	$k_2$
1985	0,01	0,56	0,28	0,08	2,21	1,18
	0,1	0,55	0,28	0,05	1,01	15,55
1990	0,01	0,43	0,32	0,33	2,92	0,4
	0,1	0,39	0,34	0,19	0,96	6,41
1995	0,01	0,17	0,38	0,85	3,1	0,58
	0,1	0,08	0,43	0,65	0,76	4,99

$\beta_{cerf\ cerf}$  : coefficient de transmission direct chez les cerfs

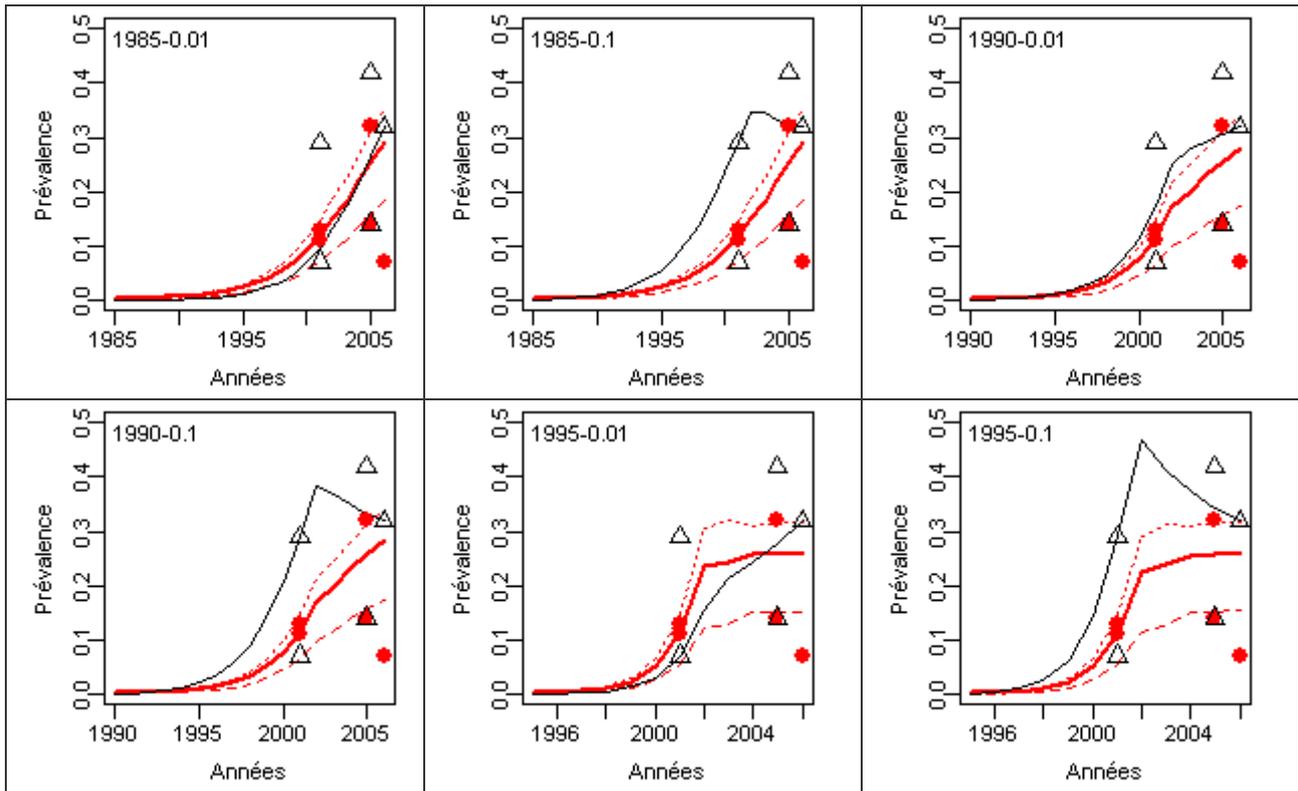
$\nu_{cerf}$  : coefficient de transmission pseudo-verticale chez les cerfs

$\varphi_{cerf\ cerf}$  : coefficient de transmission à partir de cerfs morts

$k_1$  : rapport sangliers/cerfs pour le pouvoir contaminant (direct ou indirect) des animaux infectés, vus comme des sources de bacilles

$k_2$  : rapport sangliers/cerfs pour le niveau de contact entre un animal sain et une source de bacilles.

D'après la figure 5, les courbes qui s'ajustent le mieux à la situation épidémiologique dans les forêts de Brotonne et de Mauny sont celles correspondant à l'année d'introduction 1995. En effet, on observe que toutes les autres montrent une augmentation continue du pourcentage de prévalence de l'infection chez les cerfs alors que celles de 1995 montrent un aplatissement à partir de 2002. Cette dernière tendance est plus en accord avec la diminution du pourcentage de prévalence observée chez les cerfs. Par ailleurs, les données disponibles sur les pourcentages de prévalence ne nous permettent pas de conclure de façon certaine sur une diminution du pourcentage de prévalence de l'infection chez le sanglier mais rien ne laisse supposer une augmentation rapide telle que prédite par le scénario 1995/ $\varphi_{min}=0,01$ . Il est plus plausible que la tendance chez le sanglier soit la même que celle des cerfs. C'est donc ce dernier scénario (1995/ $\varphi_{min}=0,1$ ) qui a été retenu pour la suite de l'étude.



**Figure 5. Pourcentage de prévalences observé ( $\Delta$  : prévalence observée chez les sangliers ,  $\bullet$  : pourcentage de prévalence observé chez les cerfs) et prédit de l'infection à *M. bovis* chez les cerfs élaphe ( $\leq 2$  ans : tirets,  $>2$  ans : pointillés, gras: tous) et les sangliers (ligne fine) selon l'année d'introduction (1985, 1990, 1995) et la valeur du coefficient de réduction de la transmission par les cadavres induite par la mise en œuvre de mesures de contrôle ( $\varphi_{min} = 0,01$  ou  $0,1$ )**

Les valeurs des huit paramètres de transmission pour la combinaison  $1995/\varphi_{min}=0,1$  sont présentés dans le tableau XIX. On remarque que la valeur de  $\varphi_{cerf\ cerf}$  est supérieure à celle de  $\beta_{cerf\ cerf}$ ; il en est de même pour  $\varphi_{sanglier\ sanglier}$  par rapport à  $\beta_{sanglier\ sanglier}$ . L'ajustement du modèle correspond donc à une situation où la transmission intra-espèce est plus importante à partir du contact avec des animaux morts que par contact direct avec les animaux vivants.

**Tableau XIX. Valeurs estimées des paramètres de transmission pour une introduction de *M. bovis* dans la population de cerfs en 1995 et pour une efficacité des mesures de ramassage des viscères correspondant à une réduction à 10% de la transmission ( $\varphi_{min}=0,1$ )**

Espèce	Paramètre	Description	Valeur
Cerf élaphe	$\beta_{cerf\ cerf}$	Coefficient de transmission directe	0,08
	$\varphi_{cerf\ cerf}$	Coefficient de transmission à partir de cerfs morts	0,65
	$\nu_{cerf}$	Coefficient de transmission pseudo-verticale	0,43
Sanglier	$\beta_{sanglier\ sanglier}$	Coefficient de transmission directe	0,06
	$\varphi_{sanglier\ sanglier}$	Coefficient de transmission à partir de sangliers morts	4,25
	$\nu_{sanglier}$	Coefficient de transmission pseudo-verticale	0,33
Inter-espèce	$\varphi_{cerf\ sanglier}$	Coefficient de transmission aux sangliers à partir de cerfs morts	3,23
	$\varphi_{sanglier\ cerf}$	Coefficient de transmission aux cerfs à partir de sangliers morts	0,85

### 3.3.3. Prédictions

Selon le *scénario 1*, avec une efficacité parfaite du ramassage des viscères, le modèle prédit que le nombre d'animaux infectés (infectés non excréteurs + infectés non excréteurs) diminue dans les deux espèces à partir de 2008/2009 pour atteindre 49 cerfs et 10 sangliers infectés en 2025 (tableau XIX). Lorsque l'efficacité de ramassage de viscères est la même qu'entre 2001 et 2007 (*scénario 2*), le nombre d'infectés chez les cerfs augmente (108 en 2020) alors que chez les sangliers il diminue constamment jusqu'en 2020 (326) avant d'augmenter à nouveau. L'abandon du ramassage des viscères induit une augmentation progressive du nombre d'infectés qui atteint des valeurs très élevées en 2025 (*scénario 3*). Dans ces trois premiers scénarios, où une pression de chasse correspondant à l'équilibre démographique a été appliquée aux cerfs et aux sangliers, les tailles de populations augmentent progressivement, mais en 2025 elles n'ont pas encore atteint leur niveau d'équilibre (tableau XVII).

Avec l'abattage de tous les cerfs en 2007 et un ramassage parfait de viscères (*scénario 4*), le nombre de sangliers infectés diminue progressivement jusqu'en 2025, date à laquelle il est le même que celui du scénario 1. Ce nombre diminue aussi mais de façon moins importante (63 animaux infectés en 2020) si le ramassage de viscères des sangliers morts est moins efficace

(scénario 5). Si ce ramassage est abandonné (scénario 6), le modèle prédit que l'infection peut s'entretenir dans la population de sangliers : le nombre d'animaux infectés augmente pour atteindre 917 en 2025. La population de sangliers en 2025 est la même que dans les scénarios 1, 2 et 3 car la même pression de chasse (par défaut) chez les sangliers est appliquée.

**Tableau XX. Valeurs prédites des tailles de populations en 2025 pour les cerfs élaphe les sangliers, et nombres d'animaux infectés selon neuf scénarios prospectifs**

			Cerf élaphe		Sanglier	
			Infectés (tendance)	Population	Infectés (tendance)	Population
Situation initiale (2007/2008)			77	301	413	1397
Scénarios prospectifs						
N°	Mortalité	$\varphi_{min}$				
1	Défaut <sup>a</sup>	0	49 (↘)	436	10 (↘)	1508
2	Défaut	0,1	108 (↗)	436	328 (↘ ↗)	1508
3	Défaut	1	348 (↗)	436	1014 (↗)	1508
4	Eradication <sup>b</sup>	0	0	0	10 (↘)	1508
5	Eradication	0,1	0	0	63 (↘)	1508
6	Eradication	1	0	0	917 (↗)	1508
7	Surchasse <sup>c</sup>	0	11 (↘)	188	1 (↘)	286
8	Surchasse	0,1	26 (↘ ↗)	188	54 (↘ ↗)	286
9	Surchasse	1	93 (↘ ↗)	188	188 (↘ ↗)	286

<sup>a</sup> Pression de chasse lorsque les populations sont à l'équilibre

<sup>b</sup> Abattage de tous les cerfs, pression de chasse de la population à l'équilibre pour les sangliers

<sup>c</sup> Taux de mortalité de 2006/2007 pendant cinq ans puis pression de chasse de la population à l'équilibre

↗ : augmentation progressive du nombre d'infectés

↘ : diminution progressive du nombre d'infectés

Si la surchasse de cerfs et de sangliers est poursuivie pendant cinq ans au même niveau qu'en 2006/2007, (soit des taux de mortalité de 0,41 pour les cerfs  $\leq 1$  an, 0,42 pour les cerfs  $> 1$  an et 0,66 pour les sangliers), le nombre d'infectés est très bas en 2025 (11 cerfs et 1 sanglier) avec un ramassage de viscères parfait (scénario 7). Le nombre d'infectés des deux espèces diminue à des niveaux faibles (17 cerfs et 40 sangliers en 2012 pour le scénario 8 ; 50 cerfs et 112 sangliers pour le scénario 9) et ensuite commence à augmenter jusqu'en 2025 quand le

ramassage n'est pas exhaustif (*scénario 8*) ou pas du tout effectué (*scénario 9*). Les tailles des populations en 2025 dans ces trois derniers scénarios sont basses.

Les valeurs prédites de prévalence de l'infection à l'équilibre sont présentées dans le tableau XX. Les dates d'extinction de l'infection sont données à titre indicatif.

**Tableau XXI. Valeurs prédites de la prévalence de l'infection à *M. bovis* à l'équilibre chez les cerfs élaphe et les sangliers selon les neuf scénarios prospectifs**

Scénarios	Prévalence à l'équilibre	
	Cerfs (date)	Sangliers (date)
1	0 (2160)	0 (2035)
2	0,29	0,24
3	0,81	0,68
4	-	0 (2035)
5	-	0 (2068)
6	-	0,61
7	0 (2137)	0 (2026)
8	0,29	0,68
9	0,81	0,24

### 3.4. Discussion

La modélisation mathématique aide à se focaliser sur les éléments qui sont importants à considérer sur la transmission d'une maladie dans une population (Smith *et al.*, 1995; Barlow, 1996). Dans ce sens, le modèle que nous avons développé prend en compte les points les plus importants mis en évidence lors des enquêtes épidémiologiques concernant la transmission de la tuberculose chez les cerfs élaphe et les sangliers. En outre, les simulations réalisées à partir des modèles mathématiques sont un complément aux données de terrain car elles peuvent être utilisées pour faire des prédictions sur l'efficacité de certaines mesures de contrôle (Gormley et Collins, 2000). Ces prédictions pourront ensuite être testées sur le terrain. Nous avons testé différents scénarios de contrôle, dans l'objectif de mettre en évidence de façon qualitative les mesures qui pourraient jouer un rôle déterminant, plutôt que de prédire une possible date d'extinction de la tuberculose à *M. bovis* ou de déterminer des

nombres de reproduction de base ( $R_0$ ) pour les cerfs et les sangliers selon un scénario déterminé.

Les informations limitées sur les populations de cerfs et de sangliers dans les forêts de Brotonne et de Mauny nous ont amené à estimer des tailles de populations à l'équilibre à partir desquelles nous avons fait tourner le modèle. D'après le comptage fait au phare, la valeur la plus proche de celle de la population à l'équilibre que nous avons estimée chez le cerf est celle correspondant à 1999 (391 animaux après la chasse et avant les naissances). La densité après les naissances de la population à l'équilibre serait de 6,6 animaux au  $\text{km}^2$  alors que des rapports sur les densités des cerfs en forêts de Brotonne situaient la densité maximale autour de 5 animaux au  $\text{km}^2$ . D'après ces données de terrain, nous aurions surestimé la population des cerfs mais les résultats des comptages au phare effectués en 2004 laissent penser que ce n'est pas le cas. En effet, selon ce comptage il n'en restait qu'une centaine de cerfs en 2004 mais lors de deux saisons de chasse postérieures, environ 150 animaux ont encore été chassés. Ceci indique que les comptages auraient la tendance à sous-estimer la taille réelle de la population. On peut donc penser que nos estimations donnent une idée correcte de l'ordre de grandeur de cette population. En ce qui concerne la population de sangliers, aucun comptage n'a été fait dans les forêts de Brotonne et de Mauny auquel la taille estimée de population à l'équilibre aurait pu être confrontée. Cependant, elle peut être comparée à des estimations de densité de sangliers en Europe. D'après celles-ci, la densité estimée des sangliers dans les forêts de Brotonne et de Mauny (17 animaux au  $\text{km}^2$ ) serait surestimée. En effet, la densité la plus élevée signalée dans la littérature récemment en Europe (Melis *et al.*, 2006) est celle d'une étude en Espagne qui rend compte de 10 animaux au  $\text{km}^2$ . Cependant, le caractère fermé du site, empêchant largement l'émigration, pourrait justifier des valeurs de densité plus élevées.

Nous avons développé un modèle original qui considère la transmission intra-spécifique ainsi que la transmission inter-spécifique de la tuberculose à *M. bovis* pour deux espèces sauvages, en distinguant la transmission par contact (horizontale et pseudo-verticale) de la transmission via des viscères contaminés. Le choix des compartiments (SEI) et la durée d'un an dans le compartiment E (infecté non excréteur), à différence des deux ans proposés par McCarty et Miller (1998) chez les cerfs de Virginie, nous ont semblé les plus pertinents d'après nos connaissances sur la pathogénie de la maladie chez les cerfs élaphe et les sangliers.

Différents scénarios rétrospectifs ont été envisagés, qui combinaient date d'introduction de *M. bovis* chez les cerfs et efficacité des mesures de contrôle. C'est celui pour lequel les tendances des pourcentages de prévalence prédits correspondaient à ceux observés sur le terrain qui a été sélectionné, avec la date d'introduction de l'infection dans la population des cerfs la plus tardive (1995) et le paramètre d'efficacité de ramassage de viscères le plus élevé (0,1). Cette date d'introduction serait en accord avec le fait que des cerfs élaphe porteurs de lésions n'ont été observés qu'à partir de 2001. Même si l'évolution de la maladie est lente, des dates d'introduction antérieures auraient entraîné une détection plus précoce si l'on considère que les cerfs élaphe sont peu résistants à *M. bovis* (Clifton-Hadley et Wilesmith, 1991) et que même les animaux très jeunes présentent des lésions visibles.

Les coefficients de transmission ont été estimés à partir de données de pourcentages de prévalence obtenus à partir d'échantillons d'animaux chassés. Ces échantillons ne sont pas forcément représentatifs des populations de cerfs et de sangliers, ce qui pourrait induire un biais dans cette estimation.

Chez le cerf élaphe, parmi les trois paramètres de transmission estimés (transmission directe pseudo-verticale, ou indirecte via les viscères contaminés), c'est le coefficient de transmission à partir d'animaux morts qui a la valeur la plus élevée (0,65) ce qui suggère que cette voie de transmission est plus importante que les deux autres qui sont des voies de transmission directe. C'est la première fois que l'importance d'une telle transmission indirecte, induite par les pratiques de chasse, est mise en évidence dans un modèle mathématique chez des cervidés. Une transmission indirecte à partir de nourriture contaminée a été évoquée pour les cerfs de Virginie au Michigan (Etats-Unis d'Amérique) (Schmitt *et al.*, 1997). Dans notre modèle nous n'avons pas considéré cette source de contamination mais il est possible qu'elle ait contribué à la transmission intra-espèce chez les cerfs élaphe avant l'interdiction de l'affouragement supplémentaire en 2002. La valeur estimée du coefficient de transmission pseudo-verticale (0,43) est cinq fois plus élevée que celui de la transmission directe (0,08), ce qui est cohérent avec une exposition plus importante des faons à l'infection par le contact étroit avec des mères infectées. L'estimation du coefficient de transmission directe est beaucoup moins élevée que celles trouvées par McCarty et Miller (McCarty et Miller, 1998) dans leur modèle de transmission de tuberculose chez les cerfs de Virginie (femelles=0,5, mâles=8,1). Cependant les valeurs sont difficilement comparables dans la mesure où cette

étude ne prenait pas en compte la transmission indirecte par les animaux morts de façon spécifique.

La valeur estimée du rapport sangliers/cerfs pour le pouvoir contaminant (direct ou indirect) des animaux infectés (vus comme des sources de bacilles) est inférieure à un, ce qui est en accord avec les différences de tableaux nécropsiques observées sur le terrain. En effet, les lésions chez les cerfs sont abcédées et leur rupture peut entraîner un contact plus facile avec le caséum où des *M. bovis* sont toujours viables. Chez les sangliers, les lésions granulomateuses calcifiées sont prépondérantes ce qui suggère une réponse immunitaire appropriée et très peu de bacilles viables. Inversement, la valeur estimée du rapport sangliers/cerfs pour le niveau de contact entre un animal sain et des viscères contaminés est largement supérieure à un. Ce résultat est en accord avec les caractéristiques éthologiques de ces deux espèces : le sanglier se contaminerait plus facilement que le cerf car la consommation de cadavres fait partie de ses habitudes alimentaires, mais la contamination des cerfs par cette voie existe probablement également à cause de leur comportement exploratoire qui peut les mettre au contact de cadavres ou de viscères contaminés.

Au bilan, chez le sanglier, la valeur estimée du coefficient de transmission indirect à partir de viscères est bien plus élevée (4,25) que celle du coefficient de transmission directe intra-espèce (0,06) tandis que le rapport entre le coefficient de transmission direct et le coefficient de transmission pseudo-verticale (0,33) reste pratiquement le même que celui des cerfs.

Prospectivement, notre modèle a permis d'apprécier qualitativement les effets de la combinaison de différentes modalités de deux mesures de contrôle de la tuberculose qui portaient sur la chasse et le ramassage de viscères. En absence de toute intervention pour continuer à contrôler la maladie (scénario 3) le modèle prédit que la tuberculose peut se pérenniser dans les populations de cerfs et de sangliers avec des pourcentages de prévalence à l'équilibre importants. Le même effet peut être atteint si une surchasse est pratiquée dans les deux populations pendant cinq ans (scénario 9) sans aucun ramassage de viscères. La pérennisation de la maladie est également possible mais à des pourcentages de prévalence à l'équilibre moins élevés dans les deux espèces si le ramassage est fait mais de manière imparfaite, et ce, qu'il y ait une surchasse de cerfs et de sangliers (scénario 8) ou pas (scénario 2). Si les cerfs sont tous abattus l'infection peut se maintenir dans la population de sangliers sans aucun ramassage de viscères (scénario 6). L'infection disparaît dans les populations de

cerfs et de sangliers qu'il y ait surchasse (scénario 7) ou pas (scénario 1), à condition que le ramassage de viscères soit parfait. Une éradication des cerfs entraîne une extinction de l'infection, sauf si le ramassage des viscères est abandonné (scénario 6). Le facteur qui a l'influence la plus marquée sur le contrôle de l'infection est donc le ramassage des viscères. Lorsque ce ramassage est parfait, l'infection peut toujours être contrôlée, ce qui n'est cependant plus le cas lorsque son efficacité est imparfaite (ou a fortiori si le ramassage des viscères est abandonné). Le second facteur important pour le contrôle de l'infection est l'éradication ou pas de la population de cerfs : en l'absence de cette population, le contrôle de l'infection peut être obtenu même si l'efficacité du ramassage des viscères n'est pas totale, ce qui est plus en accord avec les conditions de terrain.

Le scénario le plus réaliste combinerait donc l'abattage de tous les cerfs avec un ramassage le plus efficace possible des viscères des animaux chassés. L'éradication des cerfs élaphe a déjà été envisagée comme mesure de contrôle dans les forêts de Brotonne et de Mauny. La délimitation naturelle de ces forêts, avec une absence d'immigration de cerfs en provenance d'autres sites, facilite son application. Il restera à respecter, sur le long terme, le ramassage de viscères des sangliers qui continueront à être chassés, ce qui suppose une évolution des pratiques de chasse. On notera que même dans ce cas, la disparition de l'infection chez les sangliers risque d'être longue. Une situation similaire s'est produite en Australie où vingt ans après l'éradication des buffles sauvages, qui étaient le principal réservoir sauvage de la maladie, des cochons marrons ont été trouvés infectés, les pourcentages de prévalence étant cependant faibles (Corner *et al.*, 1981; McInerney *et al.*, 1995).

Les caractéristiques épidémiologiques du foyer de tuberculose à *M. bovis* dans les forêts de Brotonne et de Mauny sont uniques ; les prédictions du modèle ne pourront donc être validées que dans ce contexte, en les comparant aux effets futurs des mesures de contrôle sur l'évolution de la maladie. Néanmoins, la structure du modèle est telle qu'il pourrait être utilisé dans des contextes similaires où la transmission à partir d'animaux morts joue un rôle important dans la transmission de la maladie entre deux espèces voire plus. Une analyse de sensibilité reste à être effectuée afin de quantifier l'influence de la variabilité et de l'incertitude des paramètres utilisés sur les résultats.

## **DISCUSSION GENERALE**

## 4. DISCUSSION GENERALE

Depuis plusieurs années il apparaît de plus en plus évident que les espèces sauvages peuvent devenir des réservoirs de maladies transmissibles à l'homme ou aux animaux domestiques. Certaines de ces maladies étaient auparavant bien adaptées aux espèces d'animaux domestiques et ce n'est qu'au cours du dernier siècle qu'elles ont été décelées dans les espèces sauvages ; la tuberculose à *M. bovis* est l'une de ces maladies. Cette dernière a fait en plus l'objet de campagnes d'éradication dans plusieurs pays. Il est donc compréhensible que la découverte d'un possible réservoir sauvage soit perçue comme une menace pour les élevages domestiques à cause de pertes économiques, ainsi que pour la santé publique. Il n'est donc pas surprenant que la mise en évidence pour la première fois de la tuberculose à *M. bovis* dans la faune sauvage en France ait attiré l'attention des gestionnaires de la santé et que des mesures de contrôle aient été mises en place. A l'instar d'autres maladies présentes dans la faune sauvage, son étude et son contrôle posent un certain nombre de difficultés qui n'existent pas quand il s'agit de la même maladie dans les espèces domestiques (Artois *et al.*, 2001). Tout d'abord l'accès aux animaux sauvages est plus difficile que pour les animaux domestiques et les signes d'infection ou de maladie sont difficiles à évaluer. Par ailleurs, les tailles de populations ne pouvant pas toujours être estimées avec confiance, les taux de mortalité ou morbidité sont mal connus. Enfin, les animaux sauvages n'appartenant pas au domaine public ni privé, à la différence des animaux domestiques, ce sont souvent les chasseurs ou les naturalistes qui signalent des cas, ramassent des animaux morts ou se chargent d'appliquer les mesures de contrôle. Ce type d'opérations est parfois entrepris en l'absence de professionnels qualifiés en écologie ou gestion de la faune sauvage. Malgré ces difficultés, une entente a été trouvée entre différents partenaires pour étudier la tuberculose à *M. bovis* dans la faune sauvage dans les forêts de Brotonne et de Mauny afin de pouvoir apporter des solutions. Ce travail de thèse avait pour objectif de faire l'analyse épidémiologique des données collectées et de développer un modèle qui permette d'évaluer différents scénarios de contrôle.

L'estimation du niveau de circulation d'un agent pathogène dans une population sauvage est nécessaire avant qu'une décision sur la gestion de la maladie puisse être prise (Artois *et al.*, 2001). Les techniques d'échantillonnage utilisées pour évaluer des pourcentages de prévalence dans les élevages domestiques sont difficiles à appliquer quand il s'agit de la faune

sauvage car on ne connaît en général ni la taille ni la structure de ces populations et parce qu'à l'évidence on ne dispose pas d'outils (tels qu'un fichier d'identification d'animaux domestiques) qui permette d'effectuer un tirage au sort. Quand il s'agit d'espèces cynégétiques, on a donc recours à des échantillons des tableaux de chasse qui ne sont a priori pas représentatifs de la population générale, sans que le biais puisse être estimé. C'est cette méthode qui a été utilisée pour calculer le pourcentage de prévalence de la tuberculose à *M. bovis* chez les cerfs élaphe, chevreuils et sangliers dans les forêts de Brotonne et de Mauny. Un nombre moins élevé de blaireaux et de renards, qui ne sont pas des espèces cynégétiques, ont été également prélevés. D'après les protocoles des deux enquêtes qui ont été mises en place, un certain nombre d'animaux des tableaux de chasse devaient être échantillonnés pour trouver un équilibre entre sexe et âge. La mise en place des enquêtes a reposé sur la coopération de chasseurs et certains problèmes ont été rencontrés. Ainsi, l'âge n'a pas été déterminé de façon précise à partir de la dentition et la sélection des sangliers a été biaisée en privilégiant les animaux qui présentaient des lésions macroscopiques. Nous avons tenté de surmonter ces problèmes (qui ne se seraient pas posés pour des espèces domestiques) en considérant des classes d'âge chez les cerfs élaphe et en proposant des bornes pour estimer le pourcentage de prévalence de l'infection chez les sangliers. Malheureusement, le biais chez les sangliers nous a empêché de faire les mêmes analyses que celles réalisées chez les cerfs. Les estimations des pourcentages de prévalence ont cependant permis d'affirmer que la maladie était présente à des niveaux importants chez les cerfs et les sangliers.

Dès lors que des pourcentages de prévalence élevés d'une maladie sont détectés dans une population sauvage, sa surveillance devient nécessaire s'il s'agit d'une maladie importante. En ce qui concerne la tuberculose, l'utilisation de la culture bactérienne rend le suivi d'un foyer lourd et onéreux et c'est pour cette raison que des méthodes de diagnostic basées complètement ou en partie sur les résultats de l'examen nécropsique constitue une alternative possible. Cette méthode est déjà utilisée dans d'autres zones où la maladie est également présente dans des espèces cynégétiques, mais elle n'a jamais fait l'objet d'une évaluation (Parra *et al.*, 2005). Nous avons donc estimé la performance de l'examen nécropsique en tant qu'outil diagnostique chez les cerfs élaphe et avons conclu qu'il pourrait être utilisé quand l'épizootie est dans un état avancé pour remplacer la culture bactérienne à condition que sa sensibilité et sa spécificité soient suivies dans un sous-échantillon d'animaux.

Il ne suffit pas de montrer qu'une maladie est présente dans une espèce pour dire qu'elle en est un réservoir. Nous avons tenté de préciser les rôles respectifs joués par les cerfs élaphe et par les sangliers dans la dissémination de la maladie dans les forêts de Brotonne et de Mauny en étudiant le cadre lésionnel. Un score de gravité élaboré dans ce but a permis d'établir que les lésions étaient plus graves chez les cerfs que chez les sangliers. Ces lésions présentaient également des caractéristiques différentes dans les deux espèces, ce qui a permis de suggérer que la dissémination de la maladie serait plus importante à partir de cerfs qu'à partir de sangliers. Dans d'autres régions du monde il a été bien établi que des cochons marrons se sont contaminés par la consommation d'animaux morts des espèces considérées réservoirs, les cochons et les sangliers étant des charognards occasionnels. Par ailleurs, le typage moléculaire a permis d'établir que la souche qui circule dans la faune sauvage est la même, selon les marqueurs utilisés, que celle qui a été trouvée dans les foyers bovins dans les alentours des forêts où des cerfs ont été vus au contact des bovins. L'ensemble de ces éléments nous a permis de proposer que le cerf élaphe serait le réservoir de la maladie alors que le sanglier ne serait qu'un réservoir accidentel.

Parmi les options de gestion des maladies de la faune sauvage citées par Wobeser (Wobeser, 2002), deux ont été considérées pour maîtriser le foyer de tuberculose bovine dans les forêts de Brotonne et de Mauny : le contrôle et l'éradication. Le contrôle vise à réduire le pourcentage de prévalence de l'infection à un niveau acceptable ou tolérable ou à contenir sa dissémination spatiale tandis que l'éradication ne peut passer que par l'éradication de l'espèce réservoir. L'étape suivante du travail de thèse a consisté à développer un modèle qui tienne compte des résultats des enquêtes épidémiologiques ainsi que des hypothèses émises lors des analyses pour évaluer différents scénarios avec ces deux options. Les techniques pour contrôler des maladies dans la faune sauvage incluent la réduction de la taille de la population de l'espèce réservoir (qui passe par l'abattage ou par une réduction de la fertilité en utilisant des contraceptifs) et la vaccination. Puisqu'il n'existe ni contraceptifs pour les cerfs ou pour les sangliers, ni vaccins contre la tuberculose, ces mesures n'ont pas été testées. En revanche, l'éradication des cerfs est possible car le site concerné est fermé et bien délimité : c'est donc cette possibilité qui a été examinée. Des mesures de contrôle particulières à la gestion des cerfs élaphe dans ces forêts ont été appliquées dès que les résultats de la première enquête ont été disponibles. Il s'agit de l'interdiction de l'affouragement ainsi que du ramassage et de la destruction de viscères des animaux chassés qui, jusqu'en 2002 étaient laissées sur place par les chasseurs. L'accès à ces viscères contaminés a probablement facilité la diffusion de la

maladie de façon importante dans la population de sangliers et à un moindre degré chez les cerfs élaphe, et pour cette raison il a été pris en compte dans le modèle.

Le modèle que nous avons développé est un modèle compartimental simple fondé sur le principe du mélange homogène des individus et qui ne tient donc pas compte de possibles hétérogénéités de la transmission de l'infection (hétérogénéités spatiales ou induites par l'existence de groupes stables d'animaux). Ses paramètres ont été estimés grâce aux valeurs de prévalence observées au cours de trois saisons de chasse. C'est un modèle déterministe qui ne rend donc pas compte de phénomènes aléatoires. Bien qu'un concept de population seuil, qui se traduit par la détermination du nombre de reproduction de base ( $R_0$ ), soit implicitement présent lorsque le contrôle par la réduction de population est envisagé, nous n'avons pas cherché à aborder cet aspect pour différentes raisons. Tout d'abord il n'était pas possible avec un modèle déterministe de tenir compte des fluctuations aléatoires, importantes lorsque les tailles des populations ou les nombres d'infectés atteignent des niveaux faibles. Ensuite, ce concept a été développé dans le contexte de la transmission de la maladie dans une seule espèce et ne considère pas d'autres possibles espèces réservoirs. Enfin, un niveau de population seuil serait difficilement estimable quand il s'agit de la faune sauvage : d'importants aspects de l'écologie de la faune sauvage sont négligés par la théorie sous-jacente au concept de population seuil telles que les naissances saisonnières, la reproduction compensatoire ou la perturbation sociale (Lloyd-Smith *et al.*, 2005). Par ailleurs, dans la plupart des systèmes naturels il n'existe pas de seuils « abrupts » de population pour une maladie : la persistance d'une maladie enzootique augmente graduellement avec la taille de la population mais les modèles stochastiques montrent que cette persistance dans des populations finies reste temporaire puisque des fluctuations aboutiront toujours à une extinction sur des longues périodes de temps. L'analyse dans ce dernier cas se focalise sur le temps avant extinction de la maladie en partant de la distribution quasi-stationnaire du nombre de sensibles et d'infectés (état à l'équilibre du processus stochastique). Cet intervalle de temps est distribué exponentiellement, avec une espérance qui augmente avec la taille de la population. En conséquence, les seuils de populations ne devraient pas être vus comme des valeurs fixes mais plutôt comme des ordres de grandeur de tailles de population permettant l'extinction de la maladie (Lloyd-Smith *et al.*, 2005). Pour ces différentes raisons notre modèle a été utilisé pour comparer qualitativement différents scénarios de contrôle afin de détecter ceux qui seraient les plus efficaces. Le modèle a permis de mettre en valeur le rôle important joué par le non ramassage de viscères dans la transmission de la maladie dans les

forêts de Brotonne et de Mauny. Il montre aussi qu'en pratique, c'est l'éradication des cerfs élaphe et un ramassage le plus exhaustif possible de viscères qui donnerait les meilleurs résultats de contrôle. Cette prédiction pourra être validée par des résultats de terrain car l'éradication des cerfs dans les forêts de Brotonne et de Mauny va être mise en place. D'après les résultats du modèle, nous sommes en mesure de conseiller aux responsables du contrôle du foyer de veiller à que le ramassage de viscères lors de la chasse soit respecté afin qu'une pérennisation de la maladie chez le sanglier ne puisse se produire. Nous préconisons également la surveillance de l'évolution de la maladie chez les sangliers au moyen d'enquêtes qui permettent de continuer à estimer le pourcentage de prévalence de l'infection. Une éventuelle réintroduction du cerf élaphe ne pourra être envisagée qu'une fois la population de sangliers sera considérée comme indemne.

## **BIBLIOGRAPHIE**

## 5. BIBLIOGRAPHIE

- Acevedo-Whitehouse, K., J. Vicente, et al. (2005). "Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar." *Molecular Ecology* 14: 3209-3217.
- Albon, S. D., T. N. Coulson, et al. (2000). "Temporal changes in key factors and key age groups influencing the population dynamics of female red deer." *Journal of Animal Ecology* 69: 1099-1110.
- Aldwell, F. E., D. L. Keen, et al. (2003). "Oral vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG in a lipid formulation induces resistance to pulmonary tuberculosis in brushtail possums." *Vaccine* 22: 70-6.
- Aldwell, F. E., D. L. Keen, et al. (1995). "Route of BCG administration in possums affects protection against bovine tuberculosis." *N Z Vet J* 43: 356-9.
- Anderson, R. M. and W. Trehwella (1985). "Population dynamics of the badger (*Meles meles*) and the epidemiology of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*)." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 310: 327-81.
- Anonyme "Sanglier." Wikipedia.
- Anonyme (2005). Situation épidémiologique des maladies des animaux sauvages. Santé animale mondiale 2004, OIE: 29-30.
- Anonyme (Novembre 2005). "L'animal du mois : le sanglier." Site Internet de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage.
- Aranaz, A., D. Cousins, et al. (2003). "Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov." *Int J Syst Evol Microbiol* 53: 1785-9.
- Aranaz, A., L. De Juan, et al. (2004). "Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain." *Journal of Clinical Microbiology* 42: 2602-2608.
- Artois, M., R. Delahay, et al. (2001). "Control of infectious diseases of wildlife in Europe." *The Veterinary Journal* 162: 141-152.
- Aubert, M. (1995). "[Epidemiology and campaign against rabies in France and in Europe]." *Bull Acad Natl Med* 179: 1033-54.
- Barlow, N. D. (1991). "Control of endemic bovine TB in New Zealand Possum populations: results from a simple model." *The Journal of Applied Ecology* 28: 794-809.
- Barlow, N. D. (1991). "A spatially aggregated disease/host model for bovine TB in New Zealand possum populations." *The Journal of Applied Ecology* 28: 777-793.
- Barlow, N. D. (1993). "A model for the spread of bovine TB in New Zealand possum populations." *Journal of applied ecology* 30: 156-164.

- Barlow, N. D. (1994). "Predicting the effect of a novel vertebrate biocontrol agent: a model for viral-vectored immunocontraception of New Zealand possums." *The Journal of Applied Ecology* 31: 454-462.
- Barlow, N. D. (1996). "The ecology of wildlife disease control: simple models revisited." *The Journal of Applied Ecology* 33: 303-314.
- Barlow, N. D. (2000). "Non-linear transmission and simple models for bovine tuberculosis." *Journal of animal ecology* 69: 703-713.
- Baubet, E., S. Servanty, et al. (2004). Améliorer la connaissance du fonctionnement démographique des populations de sangliers : vers une meilleure gestion de l'espèce *Sus scrofa*. Rapport scientifique 2004. O. N. d. I. C. e. d. I. F. Sauvage: 30-33.
- Begon, M., M. Bennett, et al. (2002). "A clarification of transmission terms in host-microparasite models: numbers, densities and areas." *Epidemiol Infect* 129: 147-53.
- Bénet, J. J. (2002). Polycopié d'enseignement des maladies contagieuses, Ecoles nationales vétérinaires françaises.
- Bengis, R. G. (1999). *Tuberculosis in free-ranging mammals*. Philadelphia, Saunders, W.B.
- Bentil, D. E. and M. J.D. (1993). "Modelling bovine tuberculosis in badgers." *J. Anim. Ecol.* 62.
- Biet, F., M. L. Boschioli, et al. (2005). "Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC)." *Vet. Res.* 36: 411-436.
- Bollo, E., E. Ferroglio, et al. (2000). "Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Lymph Nodes of Wild Boar (*Sus scrofa*) by a Target-Amplified Test System." *J. Vet. Med. Series B* 47: 337-342.
- Brandt, S., J. Vassant, et al. (1998). "Domaine vital diurne des sangliers en forêt de Châteauvillain - Arc-en-Barrois." *Bull. mens. ONC.* 234: 4-11.
- Briggs, P., L. C. Bender, et al. (2005). "Mycobacteriosis in a black-tailed deer (*Odocoileus helionus columbianus*) caused by *Mycobacterium kansasii*." *J. Zoo Wildl. Med.* 36: 115-116.
- Briones, V., L. de Juan, et al. (2000). "Bovine tuberculosis and the endangered Iberian lynx." *Emerg Infect Dis* 6: 189-91.
- Brosch, R., S. V. Gordon, et al. (2002). "A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex." *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 3684-9.
- Bruning-Fann, C. S., S. M. Schmitt, et al. (2001). "Bovine tuberculosis in free-ranging carnivores from Michigan." *J Wildl Dis* 37: 58-64.
- Bruning-Fann, C. S., S. M. Schmitt, et al. (1998). "*Mycobacterium bovis* in coyotes from Michigan." *J Wildl Dis* 34: 632-6.

- Buchan, G. S. and J. F. Griffin (1990). "Tuberculosis in domesticated deer (*Cervus elaphus*): a large animal model for human tuberculosis." *J Comp Pathol* 103: 11-22.
- Buddle, B. M., F. E. Aldwell, et al. (1992). "Influence of stress of capture on haematological values and cellular immune responses in the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*)." *N Z Vet J* 40: 155-9.
- Buddle, B. M., F. E. Aldwell, et al. (1997). "Intraduodenal vaccination of brushtail possums with bacille Calmette-Guerin enhances immune responses and protection against *Mycobacterium bovis* infection." *Int J Tuberc Lung Dis* 1: 377-83.
- Buddle, B. M., F. E. Aldwell, et al. (1994). "Experimental *Mycobacterium bovis* infection in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*): pathology, haematology and lymphocyte stimulation responses." *Veterinary Microbiology* 38: 241-54.
- Buddle, B. M., F. E. Aldwell, et al. (2005). "Effect of oral vaccination of cattle with lipid-formulated BCG on immune responses and protection against bovine tuberculosis." *Vaccine* 23: 3581-9.
- Buddle, B. M., A. Nolan, et al. (1995). "Evaluation of three serological assays for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in brushtail possums." *New Zealand Veterinary Journal* 43: 91-95.
- Buddle, B. M., M. A. Skinner, et al. (2000). "Immunological approaches to the control of tuberculosis in wildlife reservoirs." *Vet Immunol Immunopathol* 74: 1-16.
- Buddle, B. M., M. A. Skinner, et al. (2002). "New generation vaccines and delivery systems for control of bovine tuberculosis in cattle and wildlife." *Vet Immunol Immunopathol* 87: 177-85.
- Buddle, B. M., D. N. Wedlock, et al. (2005). "Progress in the development of tuberculosis vaccines for cattle and wildlife." *Vet Microbiol.*
- Buddle, B. M. and L. J. Young (2000). "Immunobiology of mycobacterial infections in marsupials." *Dev Comp Immunol* 24: 517-29.
- Caley, P. and J. Hone (2002). "Estimating the force of infection; *Mycobacterium bovis* infection in feral ferrets *Mustela furo* in New Zealand." *Journal of animal ecology* 71: 44-54.
- Caley, P. and D. Ramsey (2001). "Estimating disease transmission in wildlife, with emphasis on leptospirosis and bovine tuberculosis in possums, and effects of fertility control." *Journal of applied ecology* 38: 1362-1370.
- Caley, P., N. J. Spencer, et al. (1998). "The effect of manipulating population density on the probability of densharing among common brushtail possums, and the implications for transmission of bovine tuberculosis." *Wildl. Res.* 25: 383-392.
- Cheeseman, C. L., J. W. Wilesmith, et al. (1988). "Dynamics of tuberculosis in a naturally infected badger population." *Mammal Rev.* 18: 61-72.

- Cleaveland, S., T. Mlengeya, et al. (2005). "Tuberculosis in Tanzanian wildlife." *J Wildl Dis* 41: 446-53.
- Clifton-Hadley, R. S. and J. W. Wilesmith (1991). "Tuberculosis in deer: a review." *Veterinary Record* 129: 5-12.
- Clutton-Brock, T. H., F. E. Guinness, et al. (1982). *Red deer : Behavior and ecology of two sexes*. Chicago, University of Chicago Press.
- Coleman, J. D. and M. M. Cooke (2001). "*Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand." *Tuberculosis (Edinburgh)* 81: 191-202.
- Collins, D. M., A. J. Radford, et al. (1994). "Diagnosis and epidemiology of bovine tuberculosis using molecular biological approaches." *Vet Microbiol* 40: 83-94.
- Corn, J. L. and V. F. Nettles (2001). "Health protocol for translocation of free-ranging elk." *J Wildl Dis* 37: 413-26.
- Corner, L. A. (2005). "The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: How to assess the risk." *Vet Microbiol*.
- Corner, L. A., R. H. Barrett, et al. (1981). "A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory." *Australian Veterinary Journal* 57: 537-542.
- Corner, L. A., B. M. Buddle, et al. (2001). "Aerosol vaccination of the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) with bacille Calmette-Guerin: the duration of protection." *Vet Microbiol* 81: 181-91.
- Corner, L. A., B. M. Buddle, et al. (2002). "Vaccination of the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) against *Mycobacterium bovis* infection with bacille Calmette-Guerin: the response to multiple doses." *Vet Microbiol* 84: 327-36.
- Corner, L. A., S. Norton, et al. (2002). "The efficacy of bacille Calmette-Guerin vaccine in wild brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*)." *Res Vet Sci* 73: 145-52.
- Corrin, K. C., C. E. Carter, et al. (1993). "An evaluation of the comparative tuberculin skin test for detecting tuberculosis in farmed deer." *N Z Vet J* 41: 12-20.
- Cousins, D. V., R. Bastida, et al. (2003). "Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov." *Int J Syst Evol Microbiol* 53: 1305-14.
- Cox, D. R., C. A. Donnelly, et al. (2005). "Simple model for tuberculosis in cattle and badgers." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 17588-93.
- Cross, M. L., E. Swale, et al. (1999). "Effect of field capture on the measurement of cellular immune responses in wild ferrets (*Mustela furo*), vectors of bovine tuberculosis in New Zealand." *Vet Res* 30: 401-10.
- Dalley, D., M. A. Chambers, et al. (1999). "A lymphocyte transformation assay for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in the Eurasian badger (*Meles meles*)." *Vet Immunol Immunopathol* 70: 85-94.

- de Lisle, G., K. Crews, et al. (1993). "Mycobacterium bovis infections in wild ferrets." N Z Vet J 41: 148-9.
- de Lisle, G. W. (1994). "Mycobacterial infections in pigs." Surveillance 21: 23-25.
- de Lisle, G. W., R. G. Bengis, et al. (2002). "Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management." Rev Sci Tech 21: 317-34.
- de Lisle, G. W., P. J. Welch, et al. (1983). "Experimental tuberculosis in red deer (*Cervus elaphus*)." N Z Vet J 31: 213-6.
- de Lisle, G. W., G. F. Yates, et al. (1995). "A study of bovine tuberculosis in domestic animals and wildlife in the MacKenzie Basin and surrounding areas using DNA fingerprinting." N Z Vet J 43: 266-71.
- De Vos, V., R. G. Bengis, et al. (2001). "The epidemiology of tuberculosis in free-ranging African buffalo (*Syncerus caffer*) in the Kruger National Park, South Africa." Onderstepoort J Vet Res 68: 119-30.
- Delahay, R. J., C. L. Cheeseman, et al. (2001). "Wildlife disease reservoirs: the epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*Meles meles*) and other British mammals." Tuberculosis (Edinburgh) 81: 43-9.
- Delahay, R. J., A. N. De Leeuw, et al. (2002). "The status of *Mycobacterium bovis* infection in UK wild mammals: a review." The Veterinary Journal 164: 90-105.
- Delahay, R. J., G. C. Smith, et al. (2006). "Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: A survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle." Vet. J.
- Delahay, R. J., G. J. Wilson, et al. (2003). "Vaccinating badgers (*Meles meles*) against *Mycobacterium bovis*: the ecological considerations." Vet J 166: 43-51.
- Denny, G. O. and J. W. Wilesmith (1999). "Bovine tuberculosis in Northern Ireland: a case-control study of herd risk factors." Vet Rec 144: 305-10.
- DGAL (2007). Bilan du rapport annuel ruminants 2005. Paris.
- Dodd, K. (1984). "Tuberculosis in free-living deer." Vet Rec 115: 592-3.
- Dohoo, I., M. Wayne, et al. (2003). Veterinary epidemiologic research. Charlottetown, AVC Inc.
- Durr, P. A., R. S. Clifton-Hadley, et al. (2000). "Molecular epidemiology of bovine tuberculosis. II. Applications of genotyping." Rev Sci Tech 19: 689-701.
- Ekdahl, M. O., B. L. Smith, et al. (1970). "Tuberculosis in some wild and feral animals in New Zealand." N Z Vet J 18: 44-5.
- Epstein, H. and M. Bichard (1984). Pig. Evolution of domesticated animals. I. L. Mason. New York, Longman.

- Flamand, J. R., A. Greth, et al. (1994). "An outbreak of tuberculosis in a captive herd of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*): diagnosis and monitoring." *Vet Rec* 134: 115-8.
- Fletcher, T. J. (1984). *Other deer. Evolution of domesticated animals.* I. L. Mason. New York, Longman.
- Frothingham, R. and W. A. Meeker-O'Connell (1998). "Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats." *Microbiology* 144 ( Pt 5): 1189-96.
- Fulford, G. R., M. G. Roberts, et al. (2002). "The metapopulation dynamics of an infectious disease: tuberculosis in possums." *Theor Popul Biol* 61: 15-29.
- Gallagher, J. and R. S. Clifton-Hadley (2000). "Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals." *Research in Veterinary Science* 69: 203-17.
- Goodger, J., A. Nolan, et al. (1994). "Serodiagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in badgers: development of an indirect ELISA using a 25 kDa antigen." *Vet Rec* 135: 82-5.
- Gormley, E. and J. D. Collins (2000). "The development of wildlife control strategies for eradication of tuberculosis in cattle in Ireland." *Tuber Lung Dis* 80: 229-36.
- Gormley, E., M. B. Doyle, et al. (2006). "Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam((R))) assay." *Vet Microbiol* 112: 171-9.
- Gortazar, C., J. Vicente, et al. (2003). "Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*)." *Veterinary Record* 152: 779-780.
- Gortazar, C., J. Vicente, et al. (2005). "Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from wild ungulates in south-central Spain." *Vet Res* 36: 43-52.
- Grange, J. M. and M. D. Yates (1994). "Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection." *Vet Microbiol* 40: 137-51.
- Greth, A., J. R. Flamand, et al. (1994). "An outbreak of tuberculosis in a captive herd of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*): management." *Vet Rec* 134: 165-7.
- Griffin, J. F. (2000). "Veterinary tuberculosis vaccine development." *Clin Infect Dis* 30 Suppl 3: S223-8.
- Griffin, J. F. and G. S. Buchan (1994). "Aetiology, pathogenesis and diagnosis of *Mycobacterium bovis* in deer." *Vet Microbiol* 40: 193-205.
- Griffin, J. F. and C. G. Mackintosh (2000). "Tuberculosis in deer: perceptions, problems and progress." *Vet J* 160: 202-19.
- Griffin, J. F., C. G. Mackintosh, et al. (2005). "Factors influencing the protective efficacy of a BCG homologous prime-boost vaccination regime against tuberculosis." *Vaccine*.

- Griffin, J. F., C. G. Mackintosh, et al. (1999). "Vaccine protocols to optimise the protective efficacy of BCG." *Tuber Lung Dis* 79: 135-43.
- Griffin, J. M., D. H. Williams, et al. (2005). "The impact of badger removal on the control of tuberculosis in cattle herds in Ireland." *Prev Vet Med* 67: 237-66.
- Haddad, N., M. Masselot, et al. (2004). "Molecular differentiation of *Mycobacterium bovis* isolates. Review of main techniques and applications." *Res Vet Sci* 76: 1-18.
- Haddad, N., A. Ostry, et al. (2001). "Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000." *Journal of Clinical Microbiology* 39: 3623-32.
- Hars, J. (2002). Surveillance of bovine tuberculosis in the wild ungulates of the Brotonne forest (Seine-maritime and Eure). Rapport Scientifique, Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage: 73-76.
- Hars, J., M. L. Boschioli, et al. (2004). "Découverte du premier foyer de tuberculose sur les ongulés sauvages en France." *Faune sauvage*: 29-34.
- Hars, J., M. L. Boschioli, et al. (2006). "La tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez le cerf et le sanglier en France. Emergence et risque pour l'élevage bovin." *Bulletin Académie Vétérinaire France* 159: 393-401.
- Hars, J. and D. Gauthier (1999). Programme de recherche de la tuberculose sur les sangliers du département de la Savoie, Office National de la Chasse.
- Haydon, D. T., S. Cleaveland, et al. (2002). "Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge." *Emerg Infect Dis* 8: 1468-73.
- Heesterbeek, J. A. (2002). "A brief history of  $R_0$  and a recipe for its calculation." *Acta Biotheor* 50: 189-204.
- Hénault, S., C. Karoui, et al. (2006). A PCR based method for tuberculosis detection in wildlife. *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health Biological Controls*. P. Vannier and D. Espeseth. Basel, Karger. 126: 123-132.
- Hermoso de Mendoza, J., A. Parra, et al. (2005). "Bovine tuberculosis in wild boar (*Sus scrofa*), red deer (*Cervus elaphus*) and cattle (*Bos taurus*) in a Mediterranean ecosystem (1992-2004)." *Prev Vet Med*.
- Hesselton, W. T. and R. Monson (1982). *White-tailed deer*. Baltimore and London, The Johns Hopkins University Press.
- Hewinson, R. G., H. M. Vordermeier, et al. (2005). "Recent advances in our knowledge of *Mycobacterium bovis*: A feeling for the organism." *Vet Microbiol*.
- Hurd, H. S. and J. B. Kaneene (1993). "The application of simulation models and systems analysis in epidemiology: a review." *Prev Vet Med* 15: 81-99.
- Jackson, R., G. W. de Lisle, et al. (1995). "A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand." *N Z Vet J* 43: 346-52.

- Jackson, R. S., M. M. Cooke, et al. (1995). "Naturally occurring tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*): III. Routes of infection and excretion." *N Z Vet. J.* 43.
- Kamerbeek, J., L. Schouls, et al. (1997). "Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology." *Journal of Clinical Microbiology* 35: 907-14.
- Kaneene, J. B. and C. O. Thoen (2004). "Tuberculosis." *J Am Vet Med Assoc* 224: 685-91.
- Kao, R. R. and M. G. Roberts (1999). "A comparison of wildlife control and cattle vaccination as methods for the control of bovine tuberculosis." *Epidemiol Infect* 122: 505-19.
- Katsumi, M., N. Kodama, et al. (1991). "Typing of *Rhodococcus equi* isolated from submaxillary lymph nodes of pigs in Japan." *Zentralbl. Veterinärmed. B.* 38: 299-302.
- Keet, D. F., N. P. Kriek, et al. (2001). "Tuberculosis in kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) in the Kruger National Park." *Onderstepoort J Vet Res* 68: 225-30.
- Keet, D. F., N. P. Kriek, et al. (1996). "Tuberculosis in buffaloes (*Syncerus caffer*) in the Kruger National Park: spread of the disease to other species." *Onderstepoort J Vet Res* 63: 239-44.
- Kent, P. T. and G. P. Kubica (1985). *Public Health Mycobacteriology. A guide for the level III laboratory.* Atlanta, Ga., Centers for Disease Control.
- Kollias, G. V., Jr., C. O. Thoen, et al. (1982). "Evaluation of comparative cervical tuberculin skin testing in cervids naturally exposed to mycobacteria." *J Am Vet Med Assoc* 181: 1257-62.
- Lees, V. W. (2004). "Learning from outbreaks of bovine tuberculosis near Riding Mountain National Park: applications to a foreign animal disease outbreak." *Can Vet J* 45: 28-34.
- Lees, V. W., S. Copeland, et al. (2003). "Bovine tuberculosis in elk (*Cervus elaphus manitobensis*) near Riding Mountain National Park, Manitoba, from 1992 to 2002." *Can. Vet. J.* 44: 830-1.
- Livingstone, P., T. Ryan, et al. (2004). "Deer Tb control in New Zealand." *Proceedings of the 1st World Deer Veterinary Congress and the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 21: 98-101.
- Lloyd-Smith, J. O., P. C. Cross, et al. (2005). "Should we expect population thresholds for wildlife disease?" *Trends Ecol Evol* 20: 511-9.
- Lugton, I. W., P. R. Wilson, et al. (1997). "Natural infection of red deer with bovine tuberculosis." *N. Z. Vet. J.* 45: 19-26.
- Lugton, I. W., P. R. Wilson, et al. (1998). "Epidemiology and pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection of red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand." *New Zealand Veterinary Journal* 46: 147-156.

- Lugton, I. W., G. Wobeser, et al. (1997). "Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in feral ferrets (*Mustela furo*) in New Zealand: II. Routes of infection and excretion." *N Z Vet J* 45: 151-7.
- Machackova, M., L. Matlova, et al. (2003). "Wild boar (*Sus scrofa*) as a possible vector of mycobacterial infections: review of literature and critical analysis of data from central Europe between 1983 to 2001." *Vet. Med. Czech.* 48: 51-65.
- Mackintosh, C. G., G. W. de Lisle, et al. (2004). "Mycobacterial diseases of deer." *New Zealand Veterinary Journal* 52: 163-74.
- Mackintosh, C. G., T. Qureshi, et al. (2000). "Genetic resistance to experimental infection with *Mycobacterium bovis* in red deer (*Cervus elaphus*)." *Infect Immun* 68: 1620-5.
- Mairtin, D. O., D. H. Williams, et al. (1998). "The influence of selected herd factors and a badger-intervention tuberculosis-control programme on the risk of a herd-level trade restriction to a bovine population in Ireland." *Prev Vet Med* 35: 79-90.
- Mairtin, D. O., D. H. Williams, et al. (1998). "The effect of a badger removal programme on the incidence of tuberculosis in an Irish cattle population." *Prev Vet Med* 34: 47-56.
- Mardyla, F. (1981). Contribution à l'étude de la biologie du cerf élaphe (*Cervus elaphus* L.). France, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- McCallum, H., N. Barlow, et al. (2001). "How should pathogen transmission be modelled?" *Trends Ecol Evol* 16: 295-300.
- McCarty, C. W. and M. W. Miller (1998). "A versatile model of disease transmission applied to forecasting bovine tuberculosis dynamics in white-tailed deer populations." *J Wildl Dis* 34: 722-30.
- McInerney, J., K. J. Small, et al. (1995). "Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory." *Australian Veterinary Journal* 72: 448-451.
- Melis, C., P. A. Szafranska, et al. (2006). "Biogeographical variation in the population density of wild boar (*Sus scrofa*) in western Eurasia." *J. Biogeogr.* 33: 803-811.
- Michel, A. L., R. G. Bengis, et al. (2006). "Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: Implications and challenges." *Vet Microbiol* 112: 91-100.
- Mijs, W., P. de Haas, et al. (2002). "Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* for bird-type isolates and '*M. avium* subsp. *hominissuis*' for the human/porcine type of *M. avium*." *Int J Syst Evol Microbiol* 52: 1505-18.
- Miller, R., J. B. Kaneene, et al. (2003). "Evaluation of the influence of supplemental feeding of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) on the prevalence of bovine tuberculosis in the Michigan wild deer population." *J Wildl Dis* 39: 84-95.
- Morris, R. S. and D. U. Pfeiffer (1995). "Directions and issues in bovine tuberculosis epidemiology and control in New Zealand." *New Zealand Veterinary Journal* 43: 256-65.

- Morris, R. S., D. U. Pfeiffer, et al. (1994). "The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections." *Veterinary Microbiology* 40: 153-77.
- Muirhead, R. H., J. Gallagher, et al. (1974). "Tuberculosis in wild badgers in Gloucestershire: Epidemiology." *Veterinary Record* 95: 522-555.
- Murray, J. D. (2002). *Mathematical biology*. New York, Springer.
- Nishi, J. S., T. Shury, et al. (2005). "Wildlife reservoirs for bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Canada: Strategies for management and research." *Vet. Microbiol.* 112: 325-338.
- Nolan, A. and J. W. Wilesmith (1994). "Tuberculosis in badgers (*Meles meles*)." *Vet Microbiol* 40: 179-91.
- Nugent, G. (1996). "Tuberculosis prevalence in wild deer and possums on Timahanga Station, Rangitikei." *Surveillance* 23: 22-24.
- Nugent, G. (2004). "Role of wild deer in the NZ Tb problem." *Proceedings of the 1st World Deer Veterinary Congress and the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 21: 115-118.
- Nugent, G., J. Whitford, et al. (2002). "Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis*." *Journal of Wildlife Diseases* 38: 665-677.
- O'Brien, D., J., S. M. Schmitt, et al. (2005). "Managing the wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis*: The Michigan, USA, experience." *Veterinary Microbiology* 112: 313-323.
- O'Brien, D. J., S. D. Fitzgerald, et al. (2001). "Tuberculous lesions in free-ranging white-tailed deer in Michigan." *J Wildl Dis* 37: 608-13.
- O'Brien, D. J., S. M. Schmitt, et al. (2004). "Estimating the true prevalence of *Mycobacterium bovis* in hunter-harvested white-tailed deer in Michigan." *J. Wildl. Dis.* 40: 42-52.
- O'Brien, D. J., S. M. Schmitt, et al. (2002). "Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995-2000." *Preventive Veterinary Medicine* 54: 47-63.
- O'Brien, R., O. Flynn, et al. (2000). "Identification of a novel DNA probe for strain typing *Mycobacterium bovis* by restriction fragment length polymorphism analysis." *J Clin Microbiol* 38: 1723-30.
- O'Brien, R., C. R. Rodgers, et al. (2004). "Immunodiagnosis of TB and Johne's disease in deer." *Proceedings of the 1st World Deer Veterinary Congress and the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 21: 102-105.
- ONCFS (2006). "Tableaux de chasse: cerf, chevreuil, sanglier. Saisons 2004 - 2005." *Supplément Faune sauvage N°271*.
- ONCFS (Sous presse). *Atlas national de la faune chassable*.

- O'Neil, B. D. and H. J. Pharo (1995). "The control of bovine tuberculosis in New Zealand." *N Z Vet J* 43: 249-55.
- O'Reilly, L. M. and C. J. Daborn (1995). "The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review." *Tuber Lung Dis* 76 Suppl 1: 1-46.
- Palmer, M. V. and W. R. Waters (2006). "Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis: What policy makers need to know." *Vet. Microbiol.* 112: 181-190.
- Palmer, M. V., W. R. Waters, et al. (2002). "Milk containing *Mycobacterium bovis* as a source of infection for white-tailed deer fawns (*Odocoileus virginianus*)." *Tuberculosis (Edinb)* 82: 161-5.
- Palmer, M. V., W. R. Waters, et al. (2003). "Aerosol exposure of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to *Mycobacterium bovis*." *J Wildl Dis* 39: 817-23.
- Palmer, M. V., W. R. Waters, et al. (2004). "Investigation of the transmission of *Mycobacterium bovis* from deer to cattle through indirect contact." *Am. J. Vet. Res.* 65: 1483-1489.
- Palmer, M. V., W. R. Waters, et al. (2004). "Shared feed as a means of deer-to-deer transmission of *Mycobacterium bovis*." *Journal of Wildlife Diseases* 40: 87-91.
- Palmer, M. V., W. R. Waters, et al. (2004). "Evaluation of an in vitro blood-based assay to detect production of interferon-gamma by *Mycobacterium bovis*-infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)." *J Vet Diagn Invest* 16: 17-21.
- Palmer, M. V., D. L. Whipple, et al. (1999). "Development of a model of natural infection with *Mycobacterium bovis* in white-tailed deer." *J Wildl Dis* 35: 450-7.
- Palmer, M. V., D. L. Whipple, et al. (2001). "Experimental deer-to-deer transmission of *Mycobacterium bovis*." *Am J Vet Res* 62: 692-6.
- Palmer, M. V., D. L. Whipple, et al. (2001). "Tuberculin skin testing in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)." *J Vet Diagn Invest* 13: 530-3.
- Parra, A., P. Fernandez-Llario, et al. (2003). "Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections of pigs and wild boars using a molecular approach." *Vet. Microbiol.* 97: 123-133.
- Parra, A., A. Garcia, et al. (2005). "An epidemiological evaluation of *Mycobacterium bovis* infections in wild game animals of the Spanish Mediterranean ecosystem." *Research in Veterinary Science* 80: 140-146.
- Parra, A., J. Larrasa, et al. (2005). "Molecular epidemiology of bovine tuberculosis in wild animals in Spain: a first approach to risk factor analysis." *Veterinary Microbiology* 110: 293-300.
- Pate, M., I. Zdovc, et al. (2004). "Isolation and characterisation of *Mycobacterium avium* and *Rhodococcus equi* from granulomatous lesions of swine lymph nodes in Slovenia." *Acta Vet. Hung.* 52: 143-50.

- Paterson, B. M., R. S. Morris, et al. (1995). "Foraging and denning patterns of brushtail possums, and their possible relationship to contact with cattle and the transmission of bovine tuberculosis." *N Z Vet J* 43: 281-8.
- Pépin, D. (1985). "Connaissances et recherches actuelles sur la biologie du sanglier." *Bull. mens. ONC* 92: 24-28.
- Peyre-Mandras, F. (1990). *Eco-éthologie et pathologie du cerf (Cervus elaphus, L. 1758). Etude des paramètres biologiques et pathologiques d'une population de cerfs du nord-est de la France.* France, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- Pfeiffer, D. U. (1994). *The role of a wildlife reservoir in the epidemiology of bovine tuberculosis,* Massey University, New Zealand.
- Phillips, C. J., C. R. Foster, et al. (2003). "The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle." *Res Vet Sci* 74: 1-15.
- Quigley, F. C., E. Costello, et al. (1997). "Isolation of mycobacteria from lymph node lesions in deer." *Vet Rec* 141: 516-8.
- Rastogi, N., E. Legrand, et al. (2001). "The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis." *Rev Sci Tech* 20: 21-54.
- Reid, H. W. (1992). *The role of farmed deer in the epidemiology of tuberculosis.* The Veterinary Annual. M.-E. Raw and T. J. Parkinson. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 32: 236-241.
- Renshaw, E. (1991). *Modelling biological populations in space and time.* Cambridge, Cambridge University Press.
- Rhyan, J. C., D. A. Saari, et al. (1992). "Gross and microscopic lesions of naturally occurring tuberculosis in a captive herd of wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*) in Colorado." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 4: 428-433.
- Ritacco, V., B. Lopez, et al. (1991). "Reciprocal cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis." *Res Vet Sci* 50: 365-7.
- Robert, J., F. Boulahbal, et al. (1999). "A national survey of human *Mycobacterium bovis* infection in France. Network of Microbiology Laboratories in France." *Int J Tuberc Lung Dis* 3: 711-4.
- Roberts, M. G. (1996). "The dynamics of bovine tuberculosis in possum populations, and its eradication or control by culling or vaccination." *J. Anim. Ecol.* 65: 451-464.
- Roberts, M. G. and R. R. Kao (1998). "The dynamics of an infectious disease in a population with birth pulses." *Mathematical Biosciences* 1998: 23-36.
- Roberts, M. G. and A. K. Saha (1999). "The asymptotic behaviour of a logistic epidemic model with stochastic disease transmission." *Applied Mathematical Letters* 12: 37-41.
- Rodwell, T. C., N. P. Kriek, et al. (2001). "Prevalence of bovine tuberculosis in African buffalo at Kruger National Park." *J Wildl Dis* 37: 258-64.

- Rohonczy, E. B., A. V. Balachandran, et al. (1996). "A comparison of gross pathology, histopathology, and mycobacterial culture for the diagnosis of tuberculosis in elk (*Cervus elaphus*)." *Canadian Journal of Veterinary Research* 60: 108-14.
- Rothel, J. S., S. L. Jones, et al. (1990). "A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon-gamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle." *Aust Vet J* 67: 134-7.
- Ruxton, G. D. (1996). "The effects of stochasticity and seasonality on model dynamics: bovine tuberculosis in badgers." *Journal of animal ecology* 65: 495-500.
- Ryan, T. J., P. G. Livingstone, et al. (2006). "Advances in understanding disease epidemiology and implications for control and eradication of tuberculosis in livestock: The experience from New Zealand." *Vet Microbiol* 112: 211-9.
- Sauter, C. M. and R. S. Morris (1995). "Behavioural studies on the potential for direct transmission of tuberculosis from feral ferrets (*Mustela furo*) and possums (*Trichosurus vulpecula*) to farmed livestock." *N Z Vet J* 43: 294-300.
- Sauter, C. M. and R. S. Morris (1995). "Dominance hierarchies in cattle and red deer (*Cervus elaphus*): their possible relationship to the transmission of bovine tuberculosis." *N Z Vet J* 43: 301-5.
- Schmitt, S. M., S. D. Fitzgerald, et al. (1997). "Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan." *Journal of Wildlife Diseases* 33: 749-758.
- Seaholm, S. K., A. E., et al. (1988). "Latin hypercube sampling and the sensitivity analysis of a Monte Carlo epidemic model." *Int. J. Biome. Comput.* 23: 97-112.
- Segales, J., J. Vicente, et al. (2005). "Systemic AA-amyloidosis in a European wild boar (*Sus scrofa*) suffering from generalized tuberculosis." *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 52: 135-7.
- Serraino, A., G. Marchetti, et al. (1999). "Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques." *Journal of Clinical Microbiology* 37: 2766-2771.
- Shirley, M. D. F., S. P. Rushton, et al. (2003). "Investigating the spatial dynamics of bovine tuberculosis in badger populations: evaluating an individual-bases simulation model." *Ecological Modelling* 167: 139-157.
- Simpson, V. R. (2002). "Wild animals as reservoirs of infectious diseases in the UK." *Veterinary Journal* 163: 128-46.
- Sisson, S. and J. D. Grossman (1959). *The Anatomy of Domestic Animals*. Philadelphia, W. B., Saunders.
- Skinner, M. A., D. L. Keen, et al. (2005). "Improving protective efficacy of BCG vaccination for wildlife against bovine tuberculosis." *Res Vet Sci* 78: 231-6.

- Skinner, M. A., D. L. Keen, et al. (2002). "Increased protection against bovine tuberculosis in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) when BCG is administered with killed *Mycobacterium vaccae*." *Tuberculosis (Edinb)* 82: 15-22.
- Skinner, M. A., D. N. Wedlock, et al. (2001). "Vaccination of animals against *Mycobacterium bovis*." *Rev Sci Tech* 20: 112-32.
- Skuce, R. A., T. P. McCorry, et al. (2002). "Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets." *Microbiology* 148: 519-28.
- Slobbe, L., E. Lockhart, et al. (2000). "The production and biological assessment of cervine interferon gamma." *Cytokine* 12: 1211-7.
- Smith, B. L., C. L. Cheeseman, et al. (2001). "A model of bovine tuberculosis in the badger *Meles meles*: the inclusion of cattle and the use of a live test." *Journal of Applied Ecology* 38: 520-535.
- Smith, G. C. (2001). "Models of *Mycobacterium bovis* in wildlife and cattle." *Tuberculosis (Edinb)* 81: 51-64.
- Smith, G. C. and C. L. Cheeseman (2002). "A mathematical model for the control of diseases in wildlife populations: culling, vaccination and fertility control." *Ecological Modelling* 150: 45-53.
- Smith, G. C., C. L. Cheeseman, et al. (1997). "Modelling the control of bovine tuberculosis in badgers in England: culling and the release of lactating females." *The Journal of Applied Ecology* 34: 1375-1386.
- Smith, G. C., C. L. Cheeseman, et al. (2001). "A model of bovine tuberculosis in the badger *Meles meles*: an evaluation of control strategies." *Journal of Applied Ecology* 38: 509-519.
- Smith, G. C., M. S. Richards, et al. (1995). "Modelling bovine tuberculosis in badgers in England: preliminary results." *Mammalia* 59: 639-650.
- Southey, A., D. P. Sleeman, et al. (2001). "Immunological responses of Eurasian badgers (*Meles meles*) vaccinated with *Mycobacterium bovis* BCG (bacillus calmette guerin)." *Vet Immunol Immunopathol* 79: 197-207.
- Stuart, F. A., K. H. Mahmood, et al. (1988). "Development of diagnostic tests for, and vaccination against, tuberculosis in badgers." *Mamm. Rev.* 18: 74-75.
- Supply, P., S. Lesjean, et al. (2001). "Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspaced repetitive units." *J. Clin. Microbiol.* 39: 3563-3571.
- Swartzman, G. L. and S. P. Kaluzny (1987). *Ecological simulation primer*. London, Macmillan.
- Swinton, J., F. Tuytens, et al. (1997). "A comparison of fertility control and lethal control of bovine tuberculosis in badgers: the impact of perturbation induced transmission." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 352: 619-31.

- Thoen, C., P. Lobue, et al. (2006). "The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis." *Vet Microbiol* 112: 339-45.
- Tuytens, F. A. M., R. J. Delahay, et al. (2000). "Spatial perturbation caused by a badger (*Meles meles*) culling operation: implications for the function of territoriality and the control of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*)." *Journal of animal ecology* 69: 815-828.
- Tweddle, N. E. and P. Livingstone (1994). "Bovine tuberculosis control and eradication programs in Australia and New Zealand." *Vet Microbiol* 40: 23-39.
- VanTiem, J. S. (1997). "The public health risks of cervid production in the United States of America." *Rev Sci Tech* 16: 564-70.
- Vassant, J. (1995). *Le sanglier*. Paris.
- Vicente, J., U. Hofle, et al. (2006). "Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain." *Veterinary Research* 37: 107-119.
- Wahlstrom, H., L. Englund, et al. (1998). "A Reed-Frost model of the spread of tuberculosis within seven Swedish extensive farmed fallow deer herds." *Prev Vet Med* 35: 181-93.
- Wakelin, C. A. and O. T. Churchman (1991). "Prevalence of bovine tuberculosis in feral pigs in Central Otago." *Surveillance* 18: 19-20.
- Ward, A. I., B. A. Tolhurst, et al. (2006). "Farm husbandry and the risks of disease transmission between wild and domestic mammals: a brief review focusing on bovine tuberculosis in badgers and cattle." *Animal science* 82: 767-773.
- Waters, W. R., M. V. Palmer, et al. (2003). "Immune responses of elk to *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette Guerin vaccination." *Vaccine* 21: 1518-26.
- Waters, W. R., M. V. Palmer, et al. (2004). "Immune responses of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to *Mycobacterium bovis* BCG vaccination." *J Wildl Dis* 40: 66-78.
- Wedlock, D. N., M. A. Skinner, et al. (2002). "Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations." *Microbes Infect* 4: 471-80.
- Whipple, D. L., P. R. Clarke, et al. (1997). "Restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium bovis* isolates from captive and free-ranging animals." *J Vet Diagn Invest* 9: 381-6.
- White, P. C. and J. K. Benhin (2004). "Factors influencing the incidence and scale of bovine tuberculosis in cattle in southwest England." *Prev Vet Med* 63: 1-7.
- White, P. C. and S. Harris (1995). "Bovine tuberculosis in badger (*Meles meles*) populations in southwest England: an assessment of past, present and possible future control strategies using simulation modelling." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 349: 415-32.

- White, P. C. and S. Harris (1995). "Bovine tuberculosis in badger (*Meles meles*) populations in southwest England: the use of a spatial stochastic simulation model to understand the dynamics of the disease." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 349: 391-413.
- White, P. C., A. J. Lewis, et al. (1997). "Fertility control as a means of controlling bovine tuberculosis in badger (*Meles meles*) populations in south-west England: predictions from a spatial stochastic simulation model." *Proc Biol Sci* 264: 1737-47.
- Whiting, T. L. and S. V. Tessaro (1994). "An abattoir study of tuberculosis in a herd of farmed elk." *Canadian Veterinary Journal* 35: 497-501.
- Wilkins, M. J., P. C. Bartlett, et al. (2003). "Mycobacterium bovis (bovine TB) exposure as a recreational risk for hunters: results of a Michigan Hunter Survey, 2001." *Int J Tuberc Lung Dis* 7: 1001-9.
- Wilkinson, D., G. C. Smith, et al. (2004). "A model of bovine tuberculosis in the badger *Meles meles*: an evaluation of different vaccination strategies." *Journal of applied ecology* 41: 492-501.
- Wobeser, G. (2002). "Disease management strategies for wildlife." *Rev Sci Tech* 21: 159-78.
- Wood, S. N. and M. B. Thomas (1990). "Super-sensitivity to structure in biological models." *Proc. R. Soc. Lond. B* 266: 565-570.
- Woodroffe, R., S. D. W. Frost, et al. (1999). "Attempts to control tuberculosis in cattle by removing infected badgers: constraints imposed by live test sensitivity." *Journal of Applied Ecology* 36: 494-501.
- Young, J. S., E. Gormley, et al. (2005). "Molecular detection of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium bovis* BCG (Pasteur) in soil." *Appl Environ Microbiol* 71: 1946-52.

## **ANNEXES**

## 6. ANNEXES

### 6.1. Articles

#### 6.1.1. Article 1 (sous presse)

##### **First tuberculosis outbreak due to *Mycobacterium bovis* in wildlife in France**

Gina Zanella<sup>1</sup>, Benoît Durand<sup>1</sup>, Jean Hars<sup>3</sup>, François Moutou<sup>1</sup>, Bruno Garin-Bastuji<sup>2</sup>, Aurore Duvauchelle<sup>4</sup>, Marc Fermé<sup>4</sup>, Claudine Karoui<sup>2</sup>, and Maria L. Boschioli<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Unité Epidémiologie and <sup>2</sup>Unité Zoonoses Bactériennes, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France

<sup>3</sup>Unité Sanitaire de la faune, Office National de la Chasse et de la faune sauvage, 5 allée de Bethléem, 38610, Gières, France

<sup>4</sup>Clinique vétérinaire, 637 rue de Verdun, 76480 Duclair, France

<sup>5</sup>Corresponding author (e-mail: ml.boschioli@afssa.fr)

#### **ABSTRACT**

At the beginning of 2001, three hunter-killed red deer (*Cervus elaphus*) in the Brotonne forest, Normandy (France) showed tuberculosis-like lesions, from which *Mycobacterium bovis* was isolated. In subsequent hunting seasons two epidemiological surveys were carried out in the area. We report the results of these surveys. We also studied the link with neighbouring cattle outbreaks by molecular typing and assessed the performance of necropsy as a diagnostic criterion in wild red deer. In the first survey (2001/2002 hunting season), 9 (12.5%) of 72 red deer sampled were positive for *M. bovis*. In the 2005/2006 hunting season, the prevalence of *M. bovis* infection increased to 23.9% ( $\chi^2 = 3.85$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.05$ ) overall in red deer (33 positive among 138 sampled). The prevalence remained stable in juveniles, but increased significantly in adults: from 13.3% in 2001-2002 to 31.7% in 2005-2006 ( $\chi^2 = 5.13$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.02$ ). Wild boars (*Sus scrofa*) were heavily infected in both surveys. One roe deer (*Capreolus capreolus*) and one red fox (*Vulpes vulpes*) also tested positive in the second survey. *M. bovis* was not isolated from badgers (*Meles meles*). Spoligotyping and Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit - Variable Number Tandem Repeat (MIRU-VNTR) analysis demonstrated that all *M. bovis* strains isolated from wildlife were of the same genotype. Thus, the wildlife outbreak involved only a single strain, and this strain was the same as that circulating in nearby cattle herds since at least 1995. Sensitivity, specificity and predictive values of the presence of macroscopic lesions as a diagnostic criterion were evaluated from the data obtained from red deer. Necropsy appears to be satisfactory as a routine tool to monitor the disease in wild red deer populations in which bovine tuberculosis has become established.

*Key words:* *Mycobacterium bovis*, *Cervus elaphus*, red deer, *Sus scrofa*, wild boar, molecular typing, diagnostic tests, France.

## INTRODUCTION

There has been a significant decrease in the incidence of bovine tuberculosis in domestic livestock in countries implementing test and slaughter control measures. However, failure to eradicate the disease from some countries by this approach has been attributed to its persistence in wildlife populations. Bovine tuberculosis has been reported in various wild species some of which may become reservoir hosts for *Mycobacterium bovis*. Ecological factors including population density, habitat differences and interactions seem to be responsible for the presence or absence of wildlife reservoirs of tuberculosis in a country (Morris et al., 1994). The criteria to be considered when assessing whether a given species is a reservoir host include (i) the persistence of the infection without any evidence that it is being seeded from other species, (ii) a clear spatial and temporal association between infection in that host and the incidence of infection in domestic stock, that can be confirmed by molecular typing, and (iii) a reduction in the spatial density of the host by control methods produces a persistent reduction of the incidence of infection in indicator species (mainly cattle) (Morris et al., 1995). In Europe, the best-known example is the badger (*Meles meles*), which has been identified as a reservoir of the disease in the British islands (Gallagher and Clifton-Hadley, 2000; Simpson, 2002). *Mycobacterium bovis* carriage has also been reported in red deer (*Cervus elaphus*) in Spain, where it is considered to be a reservoir host species (Parra et al., 2005; Vicente et al., 2006). Possums (*Trichosorus vulpecula*) are considered to be a reservoir of the disease in New Zealand and were directly involved in the infection of several cattle herds (Buddle et al., 1994; Coleman and Cooke, 2001). In Michigan, USA, the ongoing outbreak of *M. bovis* in free-ranging white tailed deer (*Odocoileus virginianus*) is a serious threat to domestic livestock (D. J. O'Brien et al., 2002; Palmer et al., 2004). In addition, many other species are spillover hosts: they become infected when the infection level is relatively high in reservoir hosts but infection in these species is not maintained in the absence of the reservoir species (Morris et al., 1994).

In France, officially declared bovine tuberculosis free in 2000 by the European Commission, no wildlife reservoir had been identified before 2001. At the beginning of 2001, macroscopic tuberculosis-like lesions in lungs and liver were found in three red deer shot by hunters in the Brotonne forest, Normandy. *M. bovis* infection was confirmed by culture of affected organs. An epidemiological survey designed to estimate the prevalence of the infection confirmed the presence of bovine tuberculosis in both red deer and wild boars (*Sus scrofa*) in the following hunting season (2001/2002). Control measures, such as the reduction of red deer population levels, a ban on supplemental feeding and the destruction of hunted animal viscera were implemented from the end of 2002. Fencing to reduce contact between wild animals and cattle in the vicinity of the forest was also extended. In the following years, passive surveillance data on hunter-killed or found-dead animals with tuberculosis-like lesions confirmed *M. bovis* circulation in the same species. During the 2005/2006 hunting season, a second survey was conducted to evaluate the progression of the disease in the affected species and the effect of control measures; this work included an assessment of spillover of the infection into other species.

The wildlife infection was accompanied by an apparent increase of the incidence in domestic animals: between 1996 and 2003 several outbreaks of unknown origin were reported affecting cattle farms around the forest.

The establishment of wildlife tuberculosis contamination in France raises issues of its control and also the technical aspects of its surveillance. Although *M. bovis* culture is the “gold standard” for tuberculosis diagnosis, its growth is too slow, time consuming and expensive to

be used for monitoring infection in a wild population. Consequently, alternative methods for the identification of infected animals would be very useful, but obviously, the diagnostic performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values) of any such methods would have to be satisfactory. Necropsy examination (occurrence of tuberculosis-like gross lesions) is an approach that has been already used to evaluate the prevalence of tuberculosis in wild boar and wild red deer in Spain (Parra et al., 2005; Vicente et al., 2006).

We report the findings of the 2001-2002 and 2005-2006 surveys of wildlife populations in the Brotonne and Mauny forests, Normandy, France. The link between wildlife and domestic outbreaks was investigated by molecular typing. The data from the two surveys were used for the first evaluation of the sensitivity, specificity and positive and negative predictive values of necropsy examination of wild red deer. We show that this approach can be used as a diagnostic criterion, instead of bacterial culture results, for populations where *M. bovis* is known to be present.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area and sampling

The study area includes the Brotonne forest (81 km<sup>2</sup>) and the nearby Mauny forest (10 km<sup>2</sup>) both in Normandy (49°21'–49°27'N, 0°51'–0°55'E). A land strip that connects the two forests allows the movement of wild animals between them. Both forests are bounded by the Seine river except in the South where their borders are a highway. Therefore, we considered the movement of wild animals between these two and other forests of the region to be negligible.

The Brotonne and Mauny forests are devoted to “recreational” deer and boar hunting. The habitat is characterized by conifers and broad-leaved trees. Domestic livestock, mainly cattle, are extensively reared on the boundaries of both forests.

In the 2001/2002 hunting season survey, sampling of ungulates was established to detect a prevalence of at least 3% in each species with 95% confidence. The species included were red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*).

For red and roe deer the population size was estimated by spotlight counts combined with the numbers of animals harvested in the previous hunting season. The wild boar population was estimated from the number of animals hunted in the previous year. However, the estimates of both population sizes are very approximate. It was decided to collect 90 animals of each species, with the aim of obtaining a balanced distribution according to sex and age.

In the 2005/2006 hunting season survey, the aim was to collect 150 red deer, 150 wild boars and 50 roe deer. Red foxes (*Vulpes vulpes*) and badgers (*Meles meles*) were also sampled and tested for disease. All these species are game species in France and, as such, can be collected when the hunting season is open.

Hunters were asked to cooperate in the survey by presenting the harvested animals for necropsy. In both surveys, almost all red deer carcasses were made available. For wild boars, carcasses were provided by hunters after evisceration, and their selection was thus probably biased by the presence of gross lesions. Necropsy examination of all animals of all species was performed by a veterinarian. Samples were collected from visible gross tuberculosis-like lesions and systematically from the respiratory tract and retropharyngeal lymph nodes. In the second survey, mesenteric lymph nodes were also collected from each carcass.

A reference number was given to each carcass and the species, date of collection, location, sex, age estimation and presence or absence of gross lesions were recorded. The age of red deer was estimated according to body weight and, for males, from antler growth and body aspect as well.

### **Prevalence of *M. bovis* infection and of tuberculosis-like gross lesions**

The prevalence of gross tuberculosis-like lesions and the prevalence of *M. bovis* infection in red deer were calculated for each hunting season. Animals showing macroscopic tuberculosis-like lesions in organs or lymph nodes at macroscopic inspection or in lymph nodes at a closer laboratory examination were scored as positive for the determination of the prevalence of gross tuberculosis-like lesions. Animals from which *M. bovis* was isolated were considered to be infected.

We considered that red deer were sampled randomly, but that wild boars were not: hunters probably submitted a larger proportion of animals presenting macroscopic lesions at evisceration than of animals without visible lesions. Consequently, the prevalence computed from this data set is likely to be overestimated. However, even if prevalence could not be directly estimated, bounds were proposed using two different denominators: for the upper prevalence bound the denominator was the number of sampled animals and for the lower prevalence bound the denominator was the number of animals hunted.

Bivariate analyses were performed to study the association between the infection status and sex and age class only in red deer (juveniles:  $\leq 2$  years, adults:  $>2$  years), as wild boar samples were considered to not be representative. Animals for which age was not available were excluded from the analysis.

A statistical software package (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, Indiana, USA) was used for prevalence and contingency table analyses.

### **Sensitivity, specificity and predictive values of necropsy used as a diagnostic tool**

Sensitivity (proportion of infected animals that test positive in the screening test), specificity (proportion of non-infected animals that test negative), positive predictive value (proportion of animals that tested positive while they were genuinely infected) and negative predictive value (proportion of animals that tested negative while they were genuinely non-infected) are standard indicators of the performance of a diagnostic test (Dohoo et al., 2003); they were calculated for gross tuberculosis-like lesions using culture as the gold standard, distinguishing sex, age class and survey year. Only data for red deer were analyzed since wild boar sampling was biased.

A statistical software package (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, Indiana, USA) was used to estimate sensitivity, specificity and predictive values.

### **Culture, identification methods and molecular typing**

The respiratory tract was carefully dissected in the laboratory and the lymph nodes recovered. Each type of lymph node (retropharyngeal, trachea, lung and mesenteric nodes) and tissue with gross lesions was individually packed, labeled and cultured.

Lymph nodes were sectioned and examined for gross lesions, which were recorded if present.

Tissue was sliced with a scalpel blade and homogenized by stomaching in the presence of 4% sulphuric acid as decontaminating solution. The samples were neutralized with 6% sodium hydroxide, and used to inoculate Lowenstein-Jensen and Coletsos egg-based solid media at 30°C, 37°C and 42°C. The tubes were observed a week after inoculation and subsequently every month for three months and the presence of colonies noted. If present, colonies were stained by the Ziehl-Neelsen method, and if acid-fast bacteria were detected, *Mycobacterium sp.* were identified by classical biochemical and culture methods (Kent and Kubica, 1985); *M. tuberculosis* and *M. avium* complexes were confirmed by DNA amplification as described by Hénault *et al.* (2006).

Molecular typing techniques were used for all *M. bovis* strains isolated, and for strains isolated from tuberculosis outbreaks among cattle in the region surrounding the Brotonne and Mauny forests. Additional strains from the National Reference Laboratory, responsible of independent cattle tuberculosis outbreaks in other parts of Normandy and with the same spoligotype as the wildlife strain were also included in the analyses.

The spoligotyping method was used as described by Kamerbeek *et al.* (1997). Spoligotyping is the major technique used for *Mycobacterium bovis* typing based on the characterization of the direct repeat (DR) region. The DR region is a monolocus area, virtually specific to the *M. tuberculosis* complex. PCR amplification of the direct repeat locus reveals the presence/absence of each of 43 variable areas of the DR locus. Heat-treated *M. bovis* cell suspensions were used. Biotin-labelled PCR products were detected on a spoligotyping membrane (Isogen Bioscience BV, Maarssen, The Netherlands). Purified sterile water and *M. bovis* and *M. tuberculosis* controls included in the spoligomembrane kit were included in each batch of tests. The nomenclature used by [www.Mbovis.org](http://www.Mbovis.org) database was adopted.

Another and more discriminative molecular typing method is the Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit - Variable Number Tandem Repeat (MIRU-VNTR). (Skuce *et al.*, 2002). It is a multiallelic system combining the characterization of several independent regions, scattered along the mycobacterial genome and evolving independently of each other. For each of these loci, MIRU-VNTR analysis reveals the number of repeats of a basic unit. We used this technique for amplification of loci QUB 11a, 11b, 26, 3336, and loci ETR-A, ETR-B, ETR-C and ETR-D, which in our hands are the most polymorphic among *M. bovis* French cattle strains (not shown).

PCR was performed in a final volume of 30µl. The primer sets reported previously (Skuce *et al.*, 2002) were used. Each PCR mix contained 3µl of 10X PCR buffer (Qiagen), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, each primer at 0.66 µM, each of the four deoxynucleoside triphosphates at 200µM, 6µl of 5X Q-solution (Qiagen) and 1U of Hot StarTaq DNA polymerase (Qiagen). Amplification was performed in a Perkin Elmer GeneAmp 9600. Two microlitres of template DNA was added to each reaction mixt. Following initial denaturation at 95°C for 15 min, the PCR mixes were subjected to 30 thermocycles of 94°C for 30s, 55°C for 60s, and 72°C for 90s. Positive and negative control reactions, in which PCR mixes were inoculated with 2 µl of boiled cells of *M. tuberculosis* strain H37Rv and sterile distilled water, respectively, were performed with each set of reactions. PCR products were separated electrophoretically on 1% NuSieve GTG (FMC, Flowgen) and 1% typing-grade SeaKem agarose (FMC, Flowgen). A 100-bp DNA ladder (Euromedex) was used as size markers. Allele naming table for each tandem repeat locus was calculated and allele variations were named using the copy number of the repeat unit present (Frothingham and Meeker-O'Connell, 1998; Skuce *et al.*, 2002).

## RESULTS

### Prevalence of *M. bovis* infection and of tuberculosis-like gross lesions

#### *Red deer*

In both surveys, the same number of examined red deer by sex and age class was roughly obtained, except in the 2001/2002 survey where juveniles were less abundant. In the first survey, 80 randomly selected red deer from 94 hunter-killed deer available were inspected for *M. bovis*. Eight animals, for which the age was not available, were excluded from the analysis. The prevalence of gross tuberculous lesions was 17.7% (95% confidence interval [CI]: 8.6%–26.7%). In the second survey, gross lesions were found in 34 of the 138 red deer sampled for which age was available (7 animals excluded, 149 animals hunted) (24.6%; 95% CI: 17.5%–31.8%). The difference between the prevalence estimates for the two surveys was not significant (Table I).

In the first survey, 12.5% (95% CI: 4.9% – 20.1%) of the inspected animals cultured positive. The prevalence of the infection was higher ( $\chi^2 = 3.85$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.05$ ) in the second survey: 23.9% (95% CI: 16.8% – 31.0%) of the sampled red deer gave *M. bovis*-positive cultures. This increase in prevalence mainly affected adults, from 13.3% in 2001/2002 to 31.7% in 2005/2006 ( $\chi^2 = 5.13$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.02$ ), whereas the prevalence in juveniles remained stable (11.1% and 13.6%, respectively). Prevalence figures were over 10 % for all age classes and both sexes, except for young females during the first survey (null prevalence) (Table I).

In the second survey, there was a significant association between age and *M. bovis* infection (Table I), with the prevalence in adults being nearly twice as high (31.7%) as that in juveniles (13.6%) ( $\chi^2 = 6.07$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.01$ ). In the first survey, the prevalence in juveniles was similar to that in adults (11.1% and 13.3%, respectively).

No association was found between sex and *M. bovis* infection in any of the surveys.

#### *Wild boar*

For wild boars, the lower and upper prevalence bounds in the first survey were 6.6% (25 positive animals among 377 animals hunted) and 29.4% (25 positives among 85 animals sampled), respectively (Table IV). The corresponding figures in the second survey were higher: 14.1% for the lower prevalence bound (65 positive animals among 462 animals hunted) and 41.9% for the upper prevalence bound (65 positive animals among 155 sampled). The prevalence of infection in the wild boar population was therefore somewhere between these estimated bounds. Gross lesions suggestive of tuberculosis were present in 29% of the animals examined in the first survey and in 42% of the animals in the second survey. Gross lesions and infections were detected in both young and adult animals and in both males and females.

#### *Other species*

None of the 38 roe deer examined in 2001/2002 presented macroscopic lesions or were positive for *M. bovis* by culture (Table IV). Of 53 roe deer examined in the 2005/2006 survey, a single 2-year-old female roe deer with no macroscopic lesions gave *M. bovis*-positive cultures. A single red fox was found infected among the 49 examined. *M. bovis* was not isolated from badgers (Table IV).

## **Sensitivity, specificity and predictive values of necropsy used as a diagnostic tool**

Complete gross pathology information and *M. bovis* culture results by age class were obtained for 68 red deer in the first survey (Table II) and for 138 in the second (Table III). Overall sensitivity can be computed from these data: of 42 culture-positive animals, 36 presented gross lesions, corresponding to a sensitivity of 86%. However, this figure hides large variations between the two surveys and between age classes: for adults, the sensitivity was 50% in the first survey and 96% in the second (Fisher's test,  $P = 0.02$ ). This difference was not observed for juveniles: sensitivity was roughly the same for the two surveys (the number of animals, however, was very low). The sensitivity variations were mirrored by positive predictive value variations: the overall proportion of culture-positive animals among animals presenting gross lesions was 78%, but the positive predictive value for adults was 37.5% for the first survey and 92.3% for the second (Fisher's test,  $P = 0.004$ ). The positive predictive value for juveniles was similar in the two surveys (75%).

These differences were not observed either for the specificity, or for the negative predictive value. The overall proportion of animals without lesions among culture-negative animals (specificity) was 94%. Similarly, the proportion of culture-negative animals among the animals without lesions (negative predictive value) was 96%.

### ***M. bovis* molecular typing and other mycobacteria**

All *M. bovis* strains isolated from wildlife showed the same spoligotype pattern: SB0134. Strains isolated from cattle outbreaks near the Brotonne and Mauny forests and wildlife strains all gave identical MIRU-VNTR profiles, whereas strains from other parts of Normandy showed clearly different profiles, with a minimum difference between profiles of two loci (Table V).

Other mycobacteria were isolated in animals that were negative to *M. bovis* in both surveys: 19 *M. avium* isolates (8 from red deer, 7 from wild boars, 4 from roe deer) and 60 isolates of unidentified non-tuberculous mycobacteria (NTM) (19 from red deer, 33 from wild boars and 8 from roe deer). Mixed mycobacterial infections were identified in four cases: unidentified NTM and *M. bovis* in two red deer, unidentified NTM plus *M. bovis* in a wild boar and *M. avium* and *M. bovis* in the only positive red fox.

## **DISCUSSION**

In this study, as is common when dealing with free-ranging populations, the sampling bias is unknown. Nevertheless, our findings provide evidence that the prevalence of *M. bovis* infection is high in the red deer population in the area studied. Unfortunately, wild boars were not randomly selected and the prevalence of macroscopic lesions and infection could not be computed in the same way as for red deer. However, the large percentage of infected animals in the samples, the prevalence bound values and the observation of macroscopic lesions in even young animals all indicate that *M. bovis* is circulating in wild boars. Only one roe deer and one red fox in the second survey were found to be infected; the infection is thus present in these species but probably at a very low level.

The overall prevalence of infection in red deer increased from 12.5% in 2001/2002 to 23.9% in 2005/2006. Analysis of the prevalence by age class suggests that the epidemiological situation progressed from an early stage in 2001/2002 (infection prevalence estimates by class age were similar) to a more advanced stage in 2005/2006. Indeed, as time elapses there is an

increasing probability of acquisition of infection because bovine tuberculosis is a chronic disease that is not highly lethal. Consistent with these observations, the proportion of animals with gross lesions among infected adults increased significantly (doubled) between the two surveys. An increase of the prevalence in juveniles would be expected in view of this increase in adults; however, it remained stable. If the prevalence in juveniles is taken as an indicator of the incidence of recent infections in the population, these findings suggest that the control measures implemented had some impact, as the incidence did not increase. However, the trends of prevalence will have to be followed in future surveys if this possibility is to be confirmed.

Bacterial culture makes outbreak monitoring cumbersome and costly due to the slow growth of *M. bovis*. In our experience, acid-fast staining, although cheap, is a poor method for mycobacterial detection. PCR analysis, which has the advantage of being a rapid diagnostic tool, is not suitable for testing for mycobacteria in gross lesions; indeed, Hénault *et al.* (2006) report that a PCR method for detecting tuberculosis in wildlife was 18.5% less sensitive than culture. Therefore, diagnostic methods based entirely or partly upon necropsy results that are easier to collect would be a valuable complement to laboratory analysis. Thus, it is important to evaluate the bias in the estimation of prevalence when necropsy results are used. Our data enabled us to estimate the epidemiological performance of necropsy as a diagnostic tool in wild red deer, bacterial culture results being the gold standard. Reasons for discordance between culture and macroscopic lesions in red deer have been reported elsewhere (Lugton *et al.*, 1998; Mackintosh *et al.*, 2004; Schmitt *et al.*, 1997). Performance indicators for this tool have been evaluated in a previous study (Rohonczy *et al.*, 1996) of farmed red deer and were similar to those obtained from overall data in our study. However, this previous work did not consider age class or other epidemiological situations. In our study, the results differed substantially according to the year of the survey and the animal's age. Sensitivity in adults was higher in the second survey (96%) than the first (50%), whereas it was higher for juveniles in the first (100%) than in the second (75%). Specificity was good in both surveys in juveniles and adults. In juveniles, the positive predictive value (proportion of animals with gross lesions that were culture-positive) remained stable at a moderate level (75%), whereas in adults, it increased significantly and markedly from a very low level in 2001/2002 to a satisfactory value in 2005/2006. The specificity and negative predictive values were good for all age classes and in both surveys. Apparent prevalence, estimated by necropsy results, would have overestimated true prevalence (according to the gold standard) by 39% in juveniles and 44% in adults in the first survey, whereas in the second survey, the overestimation of the prevalence was 4% in adults and null in juveniles. This suggests that the epidemiological situation should be taken into account when choosing the diagnostic tool. In particular, using necropsy as a diagnostic tool could lead to severely biased estimates in a population in which the epizootic is at an early stage; this bias appears to be much smaller for an epizootic at a more advanced stage. Hence, bacterial culture could be replaced by necropsy in wild red deer to reduce the costs, providing that its sensitivity and specificity are monitored using a sample of animals.

Molecular typing demonstrated that wildlife isolates and the isolates from cattle outbreaks around the Brotonne and Mauny forests are identical. Their spoligotype, SB0134, previously named GB35, is widespread among *M. bovis* strains from cattle outbreaks in France (Haddad *et al.*, 2001). As this typing method alone does not prove an infectious link between domestic and wild animals, MIRU-VNTR analysis was also performed. Cattle outbreaks strains from other parts of Normandy but with the same SB0134 spoligotype clearly gave divergent MIRU-VNTR profiles; the Brotonne and Mauny strains from any of the host species all gave

indistinguishable patterns. Therefore, a single strain is the cause of the wildlife outbreak, and it is the same as that circulating in nearby cattle herds since at least 1995. Wherever tuberculosis involves wildlife, the question of the identity of the reservoir species is raised. In our surveys, *M. bovis* was isolated from four species, and their epidemiological status has yet to be established. Red deer and cattle often share the same pastures around the Brotonne forest. It is likely that the infection was originally transmitted from cattle, the most abundant and natural host of *M. bovis*, to wild red deer, when the prevalence of infection was high in livestock of the region; the infection then spread within the red deer population. The high infection prevalence estimates for red deer, including juveniles, without evidence of a livestock source of transmission, suggest that the disease is self-maintaining in this population. Also, there have been livestock outbreaks of unknown origin near the Brotonne forest and they may well have been consequences of contact with infected red deer. Therefore, red deer may well be acting as a reservoir host and further transmission from wildlife to cattle cannot be excluded. The role of wild boars is less clear. In other areas where potential reservoir hosts are present, like possums, feral buffaloes or wild deer, it is assumed that feral pigs become infected by scavenging infected carcasses or offal of these species (Corner et al., 1981; de Lisle, 1994; Wakelin and Churchman, 1991) and they are considered particularly receptive to *M. bovis* (Nugent et al., 2002). In the Brotonne and Mauny forests, once the infection became established in red deer, it may have propagated into the wild boar population through scavenging of contaminated red deer offal left by hunters. If wild boars are spillover hosts, collection and destruction of hunted animal viscera, a policy implemented since 2002, should reduce *M. bovis* transmission from red deer to wild boars and lead to a decrease of infection in this species. Therefore, successive surveys with random samples of animals are needed to monitor the trend of the disease through time in wild boars and elucidate its epidemiological role. The very low prevalence of infection in both roe deer and red fox populations, suggests that these species are spillover hosts.

The *M. bovis* tuberculosis outbreak described here is currently the only one to have been reported in wildlife in France. In other French areas reporting unexplained cattle outbreaks, investigations of wildlife failed to detect any significant circulation of *M. bovis*. The fact that under similar epidemiological conditions the disease was not transmitted effectively from domestic animals to wildlife may indicate that such a transmission is a rare event. Migration of animals to or from the Brotonne and Mauny forests are not very likely for geographical reasons. It is plausible that there are genetic factors that contribute to the resistance or susceptibility of these isolated populations of red deer and wild boar to tuberculosis; consanguineous mating may have contributed to the emergence of animals more susceptible to tuberculosis. Investigations of this issue may provide valuable clues for the development of wildlife management strategies to control this disease.

## ACKNOWLEDGEMENTS

G. Zanella received a fellowship from the French Food Safety Agency (Agence Française de Sécurité Sanitaire et Alimentaire, AFSSA). We would like to thank national and regional animal health authorities, especially R. Goffette, J.C. Tosi, D. Desrus, S. Gouraud-Bouyer, and V. Alavoine for their collaboration in the research project. Thanks also to T. Rambaud, N. Chenoufi, and Y. Game, directors of the District Laboratories for their technical help. Many thanks also to the technicians in the District Laboratories and in the AFSSA laboratory of Maisons-Alfort, the National Hunting and Wildlife Agency (Office National de la Chasse et de la Faune sauvage), the National Forests Agency (Office National des Forêts) and the Seine-Maritime District Hunting Federation. We are grateful to V. Boschioli for her helpful comments.

## LITERATURE CITED

- BUDDLE, B. M., F. E. ALDWELL, A. PFEFFER, AND G. W. DE LISLE. 1994. Experimental *Mycobacterium bovis* infection in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*): pathology, haematology and lymphocyte stimulation responses. *Veterinary Microbiology* 38: 241-254.
- COLEMAN, J. D., AND M. M. COOKE. 2001. *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. *Tuberculosis* 81: 191-202.
- CORNER, L. A., R. H. BARRETT, A. W. LEPPER, V. LEWIS, AND C. W. PEARSON. 1981. A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal* 57: 537-542.
- DE LISLE, G. W. 1994. Mycobacterial infections in pigs. *Surveillance* 21: 23-25.
- DOHOO, I., M. WAYNE, AND H. STRYNH. 2003. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown, AVC Inc., pp 85-120.
- FROTHINGHAM, R., AND W. A. MEEKER-O'CONNELL. 1998. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology* 144: 1189-1196.
- GALLAGHER, J., AND R. S. CLIFTON-HADLEY. 2000. Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. *Research in Veterinary Science* 69: 203-217.
- HADDAD, N., A. OSTYN, C. KAROUI, M. MASSELOT, M. F. THOREL, S. L. HUGHES, J. INWALD, R. G. HEWINSON, AND B. DURAND. 2001. Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 3623-3632.
- HÉNAULT, S., C. KAROUI, AND M. L. BOSCHIROLI. 2006. A PCR based method for tuberculosis detection in wildlife *In* *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health Biological Controls*, P. Vannier, and D. Espeseth, eds. *Developments in Biologicals*. Karger, Basel, pp 123-132.
- KAMERBEEK, J., L. SCHOOLS, A. KOLK, M. VAN AGTERVELD, D. VAN SOOLINGEN, S. KUIJPER, A. BUNSCHOTEN, H. MOLHUIZEN, R. SHAW, M. GOYAL, AND J. VAN EMBDEN. 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology* 35: 907-914.
- KENT, P. T., AND G. P. KUBICA. 1985. *Public Health Mycobacteriology. A guide for the level III laboratory*. Atlanta, Ga., Centers for Disease Control.
- LUGTON, I. W., P. R. WILSON, R. S. MORRIS, AND G. NUGENT. 1998. Epidemiology and pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection of red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 46: 147-156.

- MACKINTOSH, C. G., G. W. DE LISLE, D. M. COLLINS, AND J. F. GRIFFIN. 2004. Mycobacterial diseases of deer. *New Zealand Veterinary Journal* 52: 163-174.
- MORRIS, R. S., AND D. U. PFEIFFER. 1995. Directions and issues in bovine tuberculosis epidemiology and control in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 43: 256-265.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, AND R. JACKSON. 1994. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology* 40: 153-177
- NUGENT, G. , J. WHITFORD, AND N. YOUNG. 2002. Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis*. *Journal of Wildlife Diseases* 38: 665-677.
- NUGENT, G. 2004. Role of wild deer in the NZ Tb problem. *Proceedings of the 1st World Deer Veterinary Congress and the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association* 21: 115-118.
- O'BRIEN, S. M. SCHMITT, J. S. FIERKE, S. A. HOGLE, S. R. WINTERSTEIN, T. M. COOLEY, W. E. MORITZ, K. L. DIEGEL, S. D. FITZGERALD, D. E. BERRY, AND J. B. KANEENE. 2002. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995-2000. *Preventive Veterinary Medicine* 54: 47-63.
- PALMER, M. V., W. R. WATERS, AND D. L. WHIPPLE. 2004. Shared feed as a means of deer-to-deer transmission of *Mycobacterium bovis*. *Journal of Wildlife Diseases* 40: 87-91.
- PARRA, A., A. GARCIA, N. F. INGLIS, A. TATO, J. M. ALONSO, M. HERMOSO DE MENDOZA, J. HERMOSO DE MENDOZA, AND J. LARRASA. 2005. An epidemiological evaluation of *Mycobacterium bovis* infections in wild game animals of the Spanish Mediterranean ecosystem. *Research in Veterinary Science* 80: 140-146.
- ROHONCZY, E. B., A. V. BALACHANDRAN, T. W. DUKES, J. B. PAYEUR, J. C. RHYAN, D. A. SAARI, T. L. WHITING, S. H. WILSON, AND J. L. JARNAGIN. 1996. A comparison of gross pathology, histopathology, and mycobacterial culture for the diagnosis of tuberculosis in elk (*Cervus elaphus*). *Canadian Journal of Veterinary Research* 60: 108-114.
- SCHMITT, S. M., S. D. FITZGERALD, T. M. COOLEY, C. S. BRUNING-FANN, L. SULLIVAN, D. BERRY, T. CARLSON, R. B. MINNIS, J. B. PAYEUR, AND J. SIKARSKIE. 1997. Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. *Journal of Wildlife Diseases* 33: 749-758.
- SERRAINO, A., G. MARCHETTI, V. SANGUINETTI, M. C. ROSSI, R. G. ZANONI, L. CATOZZI, A. BANDERA, W. DINI, W. MIGNONE, F. FRANZETTI, AND A. GORI. 1999. Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 2766-2771.
- SIMPSON, V. R. 2002. Wild animals as reservoirs of infectious diseases in the UK. *Veterinary Journal* 163: 128-146.

- SKUCE, R. A., T. P. MCCORRY, J. F. MCCARROLL, S. M. RORING, A. N. SCOTT, D. BRITTAIN, S. L. HUGHES, R. G. HEWINSON, AND S. D. NEILL. 2002. Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. *Microbiology* 148: 519-528.
- VICENTE, J., U. HOFLE, J. M. GARRIDO, I. G. FERNANDEZ-DE-MERA, R. JUSTE, M. BARRAL, AND C. GORTAZAR. 2006. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Veterinary Research* 37: 107-119.
- WAKELIN, C. A., AND O. T. CHURCHMAN. 1991. Prevalence of bovine tuberculosis in feral pigs in Central Otago. *Surveillance* 18: 19-20.

Table I. Prevalence of gross lesions and prevalence of infection among red deer by survey year, age class and sex

Hunting season survey	Age class (Years)	Females with			Males with			Total with		
		Gross lesions (%)	Infection (%)	n	Gross lesions (%)	Infection (%)	n	Gross lesions (%)	Infection (%)	n
2001/2002*	Juveniles ( $\leq 2$ )	1(8.3)	0(0.0)	13	3(23.1)	3(23.1)	13	4(15.4)	3(11.1)	27
	Adults ( $> 2$ )	4(16.7)	4(16.0)	25	4(26.7)	2(17.8)	17	8(19.1)	6(13.3)	45
	Total	5(13.9)	4(10.5)	38	7(25.0)	5(16.7)	30	12(17.7)	9(12.5)	72
2005/2006	Juveniles ( $\leq 2$ )	6(22.2)	4(14.8)	27	2(6.3)	4(12.5)	32	8(13.6)	8(13.6)	59
	Adults ( $> 2$ )	11(24.4)	11(24.4)	45	15(44.1)	14(41.2)	34	26(33)	25(31.7)	79
	Total	17(23.6)	15(20.8)	72	17(25.8)	18(27.3)	66	34(24.6)	33(23.9)	138

\* sex not known for 4 animals; no necropsy data for 2 males and 2 females

Table II. Sensitivity, specificity and predictive values of the presence of gross lesions using culture as the gold standard in the 2001/2002 survey in red deer by age class

	Gross lesions	Culture		Total
		Positive	Negative	
Juveniles	Present	3	1	4 (75.0%) <sup>3</sup>
	Absent	0	22	22 (100.0%) <sup>4</sup>
	Total	3 (100.0%) <sup>1</sup>	23 (95.7%) <sup>2</sup>	26
Adults	Present	3	5	8 (37.5%) <sup>3</sup>
	Absent	3	31	34 (91.2%) <sup>4</sup>
	Total	6 (50.0%) <sup>1</sup>	36 (91.2%) <sup>2</sup>	42

<sup>1</sup> Sensitivity

<sup>2</sup> Specificity

<sup>3</sup> Positive predictive value

<sup>4</sup> Negative predictive value

Table III. Sensitivity, specificity and predictive values of the presence of gross lesions using culture as the gold standard in the 2005/2006 survey in red deer by age class

	Gross lesions	Culture		Total
		Positive	Negative	
Juveniles	Present	6	2	8 (75.0%) <sup>3</sup>
	Absent	2	49	51 (96.1%) <sup>4</sup>
	Total	8 (75.0%) <sup>1</sup>	51 (96.1%) <sup>2</sup>	59
Adults	Present	24	2	26 (92.3%) <sup>3</sup>
	Absent	1	52	53 (98.1%) <sup>4</sup>
	Total	25 (96.0%) <sup>1</sup>	54 (96.3%) <sup>2</sup>	79

<sup>1</sup> Sensitivity

<sup>2</sup> Specificity

<sup>3</sup> Positive predictive value

<sup>4</sup> Negative predictive value

Table IV. Numbers of animals hunted, sampled and that were *M. bovis*-culture positive.

Hunting season survey	Number of animals	Wild boar	Roe deer	Badger	Red fox
2001/2002	Hunted	377	67	-	-
	Sampled	85	38	0	0
	Culture positive	25	0	0	0
2005/2006	Hunted	462	90	-	-
	Sampled	155	53	55	49
	Culture positive	65	1	0	1

Table V. MIRU-VNTR allele profiles (in order loci ETR A, ETR B, ETR C, ETR D, QUB 3336, QUB 11a, QUB 11b, QUB 26) of *M. bovis* cattle strains (spoligotype SB0134) from Normandy. Wildlife strain profiles shown in bold characters.

Year	Number of outbreaks	Epidemiological link with wildlife outbreak	MIRU-VNTR profile													
1979	1	no	3	3	3	4	9	9	4	6						
1983	1	no	3	4	5	7	10	11	3	5						
1995	1	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						
	1	no	2	4	5	4	10	9	3	6						
1996	1	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						
	1	no	6	5	5	4	10	9	4	6						
	1	no	4	5	5	4	10	9	4	6						
1998	2	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						
1999	1	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						
2004	1	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						
2006	2	yes	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>6</b>						

### 6.1.2. Article 2 (sous presse)

#### **Do different patterns of bovine tuberculosis lesions in wild red deer and wild boar correspond to different epidemiological roles?**

G. ZANELLA, A. DUVAUCHELLE, J. HARS, F. MOUTOU, M. L. BOSCHIROLI, B. DURAND

G. Zanella, DVM, MS, F. Moutou, DVM, B. Durand, DVM, PhD, Unité épidémiologie, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France

A. Duvauchelle, DVM, J. Hars, DVM, Unité sanitaire de la faune, Office national de la chasse et de la faune Sauvage, 5 allée de Bethléem, 38610, Gières, France

M. L. Boschirolì, PhD, Unité zoonoses bactériennes, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France

#### **Abstract**

The data obtained from a survey of *Mycobacterium bovis* infection in wild red deer (*Cervus elaphus*) and wild boar (*Sus scrofa*) conducted in France in the 2005/2006 hunting season were used to describe and quantify the pathological findings in both species. Red deer disclosed abscessed lesions with caseum in organs and lymph nodes while in wild boars, lesions were predominantly caseo-calcareous and occurred mainly in the lymph nodes. The severity of gross tuberculosis-like lesions was estimated from a score. The difference in the distribution of scores in the two species (Fisher's test,  $p < 0.001$ ) indicates that the disease is more serious in red deer than in wild boar. Unlike red deer, wild boars did not show a generalized disease clinical pattern. Among the lymph nodes examined systematically, gross lesions were most frequently observed in the mesenteric lymph nodes in red deer and in the retropharyngeal lymph nodes in wild boars. The presence of gross lesions showed the highest agreement with the isolation of *M. bovis* in the same lymph nodes in both species (kappa in mesenteric lymph nodes=78% in red deer, kappa in retropharyngeal nodes=61% in wild boars). The different patterns of tuberculosis lesions between these animal species suggest that red deer would play an important role in the intra and interspecies infection dissemination while in wild boar an intraspecies bacillus spread would be more likely to occur.

#### **Introduction**

Bovine tuberculosis, an important emerging disease in wildlife in several countries (Serraino and others 1999, Gallagher and Clifton-Hadley 2000, Coleman and Cooke 2001, O'Brien and others 2002, Parra and others 2005), was identified for the first time in wildlife in France in 2001. A survey carried out in the 2001/2002 hunting season in one location in Normandy established that wild red deer (*Cervus elaphus*) and wild boars (*Sus scrofa*) were heavily infected by *Mycobacterium bovis* (Hars and others 2004). Control measures, such as the reduction of red deer population levels, a ban on supplemental feeding and removal and destruction of hunted animal viscera are being applied since the end of 2002. During the 2005/2006 hunting season, a second survey was conducted to evaluate the progress of the infection in the affected species and the effect of control measures.

In the first survey, different patterns of tuberculous lesions were noticed in red deer and wild boars. The purpose of this study was to describe, quantify and compare the pathological findings in both species from data collected during the second survey carried out in the 2005-2006 hunting season. These findings were used to analyse the roles played by wild red deer and wild boar in the intra and interspecies dissemination of the infection.

## **Materials and methods**

### *Study area and sampling*

The study area includes the Brotonne forest (81 km<sup>2</sup>) and the nearby Mauny forest (10 km<sup>2</sup>) located in Normandy. A land strip that connects the two forests enables the movement of wild animals between them. These forests are devoted to “recreational” deer and boar hunting. The habitat is characterized by conifers and broad-leaved trees.

During the 2005-2006 hunting season, hunters were asked to cooperate in the survey by submitting the hunted animals to necropsy. Almost all shot red deer carcasses were submitted to necropsy examination as well as half of the wild boars hunted. Unlike red deer, wild boars were eviscerated by hunters before being submitted for examination of carcasses and viscera. Therefore, hunters probably biased the sampling by submitting more often the carcasses and viscera of wild boars presenting gross lesions. Whatever the species, necropsy examination was performed by a veterinarian. Sampling of visible gross tuberculosis-like lesions and systematic sampling of the respiratory tract, retropharyngeal and mesenteric lymph nodes were undertaken.

A reference number was given to each carcass and the species, date of collection, location, sex, age and presence or absence of gross lesions were recorded. For wild boars, age was determined on colour coat and body weight. Age of red deer was estimated from body weight and for male from antler growth and body aspect as well. This method of ageing is not very accurate; thus two age classes were considered for red deer (juveniles:  $\leq 2$ , adults:  $> 2$  years) and wild boars (juveniles:  $\leq 1$ , adults:  $> 1$  year).

### *Culture and identification methods*

At the laboratory a careful dissection of the respiratory tract was performed to recover the lymph nodes. Retropharyngeal, pulmonary (including tracheal, bronchial and mediastinal lymph nodes) and mesenteric lymph nodes and tissue with gross lesions were individually packed, labelled and submitted for culture.

Lymph nodes were sectioned and examined for gross lesions, which, if present, were recorded.

Tissue was sliced with a scalpel blade and homogenized by stomaching in 4% sulphuric acid as decontaminating solution. Once neutralized with 6% sodium hydroxide, samples were inoculated into Lowenstein-Jensen and Coletsos egg based solid media at 30°C, 37°C and 42°C. After a first observation on the first week post-inoculation, tubes were observed every month until 3 months for the presence of colonies. If present, colonies were stained with the Ziehl-Neelsen methods, and if acid-fast bacteria were detected, *Mycobacterium sp.* were identified by classical biochemical and cultural methods (Kent and Kubica 1985), *M. tuberculosis* and *M. avium* complexes being confirmed by DNA amplification as described by Hénault and others (2006).

### *Quantitative analyses*

Animals presenting macroscopic tuberculosis-like lesions in organs or lymph nodes at macroscopic inspection or in lymph nodes at a closer laboratory examination were included for computation of presence of gross tuberculosis-like lesions. Animals were classified as infected if *M. bovis* was isolated, and as non-infected if mycobacteria other than *M. bovis* were isolated or if no mycobacteria were isolated. The severity of gross tuberculosis-like lesions were quantified using the 4-valued lesion score in Table I. The relationship between sex and age class and the score of lesions in infected animals was explored. An association between species and the lesion score was also studied. Considering that the sample of wild boars was not randomly obtained and hence the percentage of wild boars without lesions could be biased, we decided to exclude score 1 (no visible lesions) to evaluate this relationship.

Kappa values were computed to compare the agreement between the presence of macroscopic lesions and *M. bovis* isolation by type of lymph node: retropharyngeal, pulmonary and mesenteric nodes.

Bivariate analysis and kappa computation were performed with a statistical software package (SAS version 8, SAS Institute Inc., Cary, USA).

## **Results**

### *Red deer*

One hundred and forty five animals were sampled, of which 59 were juveniles and 80 adults. No age data was available for 6 animals. Thirty-five (24.1%) red deer had gross lesions compatible with tuberculosis. Of these, 8 were juveniles and 27 were adults. Caseation was predominant. Lesions in lymph nodes appeared as abscessed nodes varying in size and containing creamy yellowish pus. The mesenteric nodes showed large fibrously encapsulated abscesses up to 30 cm long stuck to the adjacent tissues. Lymphadenopathy was common. Small parenchymatous caseous lesions from 1 to 7 cm in diameter were found in the lungs. Some deer displayed a fibrinous pleuresia, sometimes in conjunction with pleural abscesses. Tuberculous lesions were also seen in the aorta, diaphragm, spleen, rumen, joints (spine, legs), mammary gland and under the skin. No calcified lesions were observed.

*M. bovis* was isolated from 33 (22.8%) animals of which 3 had no macroscopic lesions (lesion score=1) (Table 2). Eight of the infected animals were juveniles and 25 were adults. Of the 5 non-infected animals displaying tuberculosis-like lesions, one non-identified non-tuberculous mycobacteria (NTM) was isolated from one animal.

No statistical association was detected between sex or age class and lesion score in infected animals. Of the 30 infected animals with lesions, 6 were juveniles and 24 were adults. Generalized disease, corresponding to score 4, was observed in 2 infected juveniles (1 female and 1 male) and 4 infected adults (4 males). Fourteen infected animals, mainly adults, showed lesions exclusively in one of the three systematically examined lymph nodes (score 2). Of the 10 infected animals with score 3, 4 showed lesions in thoracic organs, 2 in abdominal organs and 4 in other organs or sites (mammary gland, skin, joints).

Mesenteric lymph nodes were the most frequently affected. Of the 26 infected animals with lesions in at least one of the three types of lymphatic nodes considered in this study, only one

had no lesions in the mesenteric lymph nodes (Table 3). Twenty-one infected red deer showed lesions exclusively in the mesenteric lymph nodes while 4 infected animals had lesions concomitantly in the retropharyngeal or pulmonary nodes.

Bacteriological results were not obtained for every type of lymph node in all red deer for kappa computation (Table 4). Presence of macroscopic lesions in mesenteric lymph nodes had the highest agreement beyond chance with culture (kappa=78%) while it was low for retropharyngeal (kappa=20%) and pulmonary nodes (kappa=25%). Kappa values in mesenteric lymph nodes were higher in adults (90%; 95% CI: 79%–100%) than in juveniles (43%; 95% CI: 51%–81%).

#### *Wild boar*

Gross tuberculous lesions were recorded in 64 (41.3%) of the 155 inspected animals (58 juveniles, 93 adults, no age data for 4). Of the animals with lesions, 28 were juveniles, 35 were adults and no age data was available for one. Lesions were most typically found in the retropharyngeal nodes. Lymph nodes could be moderately hypertrophied with 1 mm miliary caseo-calcareous foci or highly hypertrophied with yellow dry or greenish liquid content. Pulmonary and mediastinal lymph nodes were rarely hypertrophied and showed some tiny caseo-calcareous nodulations. The same type of lesions was observed in the mesenteric lymph nodes only when they were incised. Three animals displayed an advanced induration of the lung with calcified caseum while one had a small caseo-calcareous lesion in a lung. No abscesses were found in the lung. Seven animals showed a fibrinous pleuresia; one of them in conjunction with lesions in the lung. Only 4 animals presented lesions in other organs or sites; 1 of them displayed a fibrinous peritonitis, 2 miliary foci in the liver and 1 arthritis in a leg joint.

*M. bovis* was isolated from 65 animals (41.9%) of which 15 had no macroscopic lesions (Table 2). Twenty-nine of the infected animals were juveniles, 35 were adults and no age was available for one. Among non-infected animals with macroscopic lesions, no mycobacteria were isolated from 9 animals displaying tuberculosis-like lesions and NTM were isolated from 5 of them.

No statistical association was detected between sex or age class and lesion score in infected animals. Of the 50 infected animals with lesions, 23 were juveniles, 26 were adults and no age was available for one. No generalized disease (score 4) was observed (Table 2). Most of the infected animals showed lesions in at least one type of the three systematically examined lymph nodes, mainly retropharyngeal, and only 11 had lesions in internal organs (10 in thoracic organs and 1 in abdominal organs).

Of the 49 infected animals with lesions in one of the three types of lymph nodes, 46 showed lesions in the retropharyngeal lymph nodes (Table 3). Of these, 35 disclosed lesions in the retropharyngeal lymph nodes alone and 11 in conjunction with lesions in the pulmonary or mesenteric nodes.

The highest kappa value was obtained for retropharyngeal lymph nodes (kappa=61%) of the inspected wild boars for which information on culture and presence of macroscopic lesions in the three types of lymph nodes was available (Table 4). Considering age, this value was slightly lower in adults (55.2%; 95% CI: 35.4%–75.1%) than in juveniles (64.5%; 95% CI: 42.3%–86.7%). For pulmonary and mesenteric nodes, overall kappa values were lower (36% and 30%, respectively) and did not differ considerably by age class.

### *Red deer and wild boar score comparison*

There was an association between the score of lesions (score 1 excluded) and species in infected animals showing lesions (Fisher's test,  $p < 0.001$ ). The main difference in score between the two species was due to the fact that no wild boar disclosed generalized tuberculosis. Moreover, the percentage of animals with lesions in at least one lymph node (score 2) was more common in infected wild boars (78%) than in infected red deer (47%).

### **Discussion**

A different pattern of tuberculous lesions in red deer and wild boar was found. This difference was corroborated by a significant link between the score of lesions and the animal species. Red deer disclosed abscessed lesions with caseation in organs and lymph nodes while in wild boar lesions were predominantly caseo-calcareous and occurred mainly in the lymph nodes. These differences in lesion characteristics between the two species have been reported previously (Corner and others 1981, Rhyan and others 1992, Whiting and Tessaro 1994, Coleman and Cooke 2001, Nugent and others 2002, Gortazar and others 2003, Parra and others 2005). The difference in the distribution of scores in the two species indicates that the disease could be more serious in red deer than in wild boar even in young animals. Unlike red deer, wild boars did not display generalized disease (score 4) and lesions in organs other than lungs or pleura were rare.

The pattern of tuberculosis lesions can help to analyse the degree of implication of an animal species in the dissemination of bovine tuberculosis in an ecosystem and hence, to better understand the epidemiology of the disease in wildlife. Red deer are considered to be less resistant to *M. bovis* because of their tendency towards the formation of thin-walled abscesses with pus rather than the classic caseo-calcareous lesions (Clifton-Hadley and Wilesmith 1991) and on this basis are considered true host for bovine tuberculosis (Parra and others 2005). In this study, the high prevalence of macroscopic lesions and of infection in red deer (24.1% and 22.8%, respectively), the predominance of abscesses in animals showing lesions, the presence of caseous lesions in the lungs and the fact that 18% of the infected animals showed a generalized disease clinical pattern gives support to the important role of red deer in the dissemination of the infection in the Brotonne and Mauny forests. These findings would explain not only the intraspecies dissemination of the infection through aerosols originating from pulmonary lesions but also the interspecies spread. It is thought that the infection may have propagated into the wild boar population before the implementation of control measures through scavenging of red deer contaminated offal left over by hunters after harvesting, even if consumption of naturally dead infected red deer carcasses cannot be excluded. Presence of viable *M. bovis* in abscessed lesions with pus is more likely than in caseo-calcareous lesions. Thus, scavengers' contamination would be easier from red deer carcasses than from wild boar carcasses. Red deer had also been incriminated in the occurrence of cattle outbreaks in the surroundings of the forests by direct contact with cattle while grazing. Regarding wild boar, the overall predominance of calcified granulomatous lesions in this species would indicate a prolonged and chronic infection suggesting an appropriate immune response and a paucity of viable bacilli (Parra and others 2005). Feral pigs may even be able to resolve lesions (Corner and others 1981, McInerney and others 1995). These features would apply to a species whose role in infection dissemination is not considered central. In our study, the absence of generalized disease and the features of lesions found in wild boars would support this assumption. However, if we take into account that the number of infected wild boars in the sample is high, even if its selection was biased (animals with gross lesions were submitted more often), and that juveniles are affected as well, intraspecific dissemination of the

infection cannot be excluded. The presence of lesions together with the isolation of *M. bovis* from pulmonary lesions or pulmonary lymph nodes in some of the inspected wild boars in the Brotonne and Mauny forests could support this hypothesis. Transmission of *M. bovis* from wild boars to red deer or to cattle seems more difficult. It might occur if red deer or cattle investigate carcasses of infected wild boars closely, especially those with generalised lesions. This is unlikely, since in this study no wild boars presented generalised disease (score 4). Besides, transmission from living wild boars to living red deer or cattle seems improbable because of the lack of contact between them. This highlights the importance of removing the viscera of hunted animals. In conclusion, although transmission of the infection within the wild boar population in the Brotonne and Mauny forests seems feasible, spread from this animal species to others is probably negligible. Indirect transmission from environmental sources such as pasture, soil and faeces cannot be discarded. However, according to Morris and others (1994) these sources of infection in most environments appear to be small compared with other mechanisms of transmission. Preliminary bacteriological results from environmental samples of Brotonne and Mauny forests (soil and fecal samples from red deer and wild boars) are negative for *M. bovis*. Transmission from infected feed could have occurred in red deer before the ban on supplemental feeding at the end of 2002, as suggested for white-tailed deer in Michigan (USA) (Schmitt and others 1997).

The frequency of macroscopic lesions by type of lymph nodes also differed in red deer and wild boars. Seventy nine percent of the infected red deer displayed lesions in the retropharyngeal, pulmonary or mesenteric lymph nodes and only one of these animals had no lesions in the mesenteric lymph nodes. Moreover, 37% of the infected animals with lesions disclosed them in the mesenteric nodes exclusively. Ninety-four percent of the infected wild boars with lesions in lymph nodes had lesions in the retropharyngeal lymph nodes, of which 76% did not occur concomitantly with lesions in the other two types of lymph nodes. Furthermore, in both species, the best agreement between presence of macroscopic lesions and *M. bovis* culture was obtained on lymph nodes that displayed macroscopic lesions more frequently. This fact suggests that the retropharyngeal nodes in wild boars and the mesenteric lymph nodes in red deer are the main lymphatic sites of multiplication of this mycobacterial species. When the analysis of agreement was performed by age class, kappa statistics were higher in adult red deer for the mesenteric lymph nodes (kappa=90%) while they were rather lower for the retropharyngeal nodes in adult wild boars (55.2%). This variability in results according to age could be due to a difference in the evolution of the disease in both species. In red deer, as animals age the probability of acquiring infection increases because bovine tuberculosis is a chronic non-highly lethal disease. It is also possible that the immune status impairs with age making both the presence of lesions and of viable *M. bovis* more likely. Instead, in wild boar, lower kappa values in adults could indicate a better control of the infection in chronic lesions or even that they are able to eliminate the mycobacteria from chronic lesions as time elapses.

According to some authors, the most common lymph nodes or organs presenting lesions would be linked with the primary route of transmission (Biet and others 2005). However, such assumption may not be straightforward. In pigs, retropharyngeal nodes receive afferent vessels from the tongue, the soft palate, posterior part of the nasal cavity, larynx and efferent vessels of the mandibular lymph nodes (Sisson and Grossman 1959). In this sense, the main presence of tuberculosis lesions observed in the retropharyngeal lymph nodes in wild boars in our survey would indicate either oral or aerogenous route transmission. Considering the epidemiological context, the oral transmission through scavenging is the most likely but an aerogenous transmission within this species cannot be excluded. Regarding red deer, the

predominance of lesions in mesenteric lymph nodes observed in our study would rather suggest an oral transmission. However, the reason for the presence of lesions mainly in mesenteric lymph nodes in this species is not evident. It could be hypothesized that they arise through oral infection by social licking or nibbling but enough proof for this is lacking. Oral transmission of *M. bovis* through feeding before the ban on supplemental feeding cannot be excluded as well. Most of the infected red deer showing lesions in the mesenteric lymph nodes and no lesions in other viscera or lymph nodes in our study were adults that could have been contaminated before the ban. Another possibility is that the presence of lesions in mesenteric lymph nodes reflects a generalization of the disease while in wild boar they would be absent due to its relative resistance and ability to clear infection. Therefore, the difference in the distribution of lesions in lymph nodes in red deer and wild boars may be due to a different pathogenesis pattern of *M. bovis* infection in each species and the route of transmission would not be the only element to be taken into account. The mechanisms explaining the pathogenesis of the disease in these two species remains unclear and further studies would be necessary to clarify this issue.

### Acknowledgements

G. Zanella has a fellowship from the French Food Safety Agency (Agence Française de Sécurité Sanitaire et Alimentaire, AFSSA). We would like to thank national and regional animal health authorities for their collaboration in the research project. Many thanks also to the directors of the District Laboratories for their technical help, the technicians in the District Laboratories and in the AFSSA laboratory of Maisons-Alfort, the National Hunting and Wildlife Agency (Office National de la Chasse et de la Faune sauvage), the National Forests Agency (Office National des Forêts) and the Seine-Maritime District Hunting Federation.

### References

- BIET, F., M. L. BOSCHIROLI, M. F. THOREL & L. A. GUILLOTEAU. (2005) Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Vet. Res.* **36**, 411-436
- CLIFTON-HADLEY, R. S. & J. W. WILESMITH. (1991) Tuberculosis in deer: a review. *Veterinary Record* **129**, 5-12
- COLEMAN, J. D. & M. M. COOKE. (2001) *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. *Tuberculosis* **81**, 191-202
- CORNER, L. A., R. H. BARRETT, A. W. LEPPER, V. LEWIS & C. W. PEARSON. (1981) A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal* **57**, 537-542
- GALLAGHER, J. & R. S. CLIFTON-HADLEY. (2000) Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. *Research in Veterinary Science* **69**, 203-217
- GORTAZAR, C., J. VICENTE & D. GAVIER-WIDEN. (2003) Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Veterinary Record* **152**, 779-780
- HARS, J., M. L. BOSCHIROLI, P. BELLI, J. VARDON, E. COQUATRIX, B. GARIN-BASTUJI & M. F. THOREL. (2004) Découverte du premier foyer de tuberculose sur les ongulés sauvages en France. *Faune sauvage*, 29-34

- HÉNAULT, S., C. KAROUI & M. L. BOSCHIROLI. 2006. A PCR based method for tuberculosis detection in wildlife. In *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health Biological Controls*. Eds P. Vannier, D. Espeseth. Developments in Biologicals. Basel, Karger, pp 123-132.
- KENT, P. T. & G. P. KUBICA. (1985) *Public Health Mycobacteriology. A guide for the level III laboratory* Atlanta, Ga., Centers for Disease Control.
- MCINERNEY, J., K. J. SMALL & P. CALEY. (1995) Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal* **72**, 448-451
- MORRIS, R. S., D. U. PFEIFFER & R. JACKSON. (1994) The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology* **40**, 153-177
- NUGENT, G., J. WHITFORD & N. YOUNG. (2002) Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis*. *Journal of Wildlife Diseases* **38**, 665-677
- O'BRIEN, D. J., S. M. SCHMITT, J. S. FIERKE, S. A. HOGLE, S. R. WINTERSTEIN, T. M. COOLEY, W. E. MORITZ, K. L. DIEGEL, S. D. FITZGERALD, D. E. BERRY & J. B. KANEENE. (2002) Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995-2000. *Preventive Veterinary Medicine* **54**, 47-63
- PARRA, A., A. GARCIA, N. F. INGLIS, A. TATO, J. M. ALONSO, M. HERMOSO DE MENDOZA, J. HERMOSO DE MENDOZA & J. LARRASA. (2005) An epidemiological evaluation of *Mycobacterium bovis* infections in wild game animals of the Spanish Mediterranean ecosystem. *Research in Veterinary Science* **80**, 140-146
- RHYAN, J. C., D. A. SAARI, E. S. WILLIAMS, M. W. MILLER, A. J. DAVIS & A. J. WILSON. (1992) Gross and microscopic lesions of naturally occurring tuberculosis in a captive herd of wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*) in Colorado. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **4**, 428-433
- SCHMITT, S. M., S. D. FITZGERALD, T. M. COOLEY, C. S. BRUNING-FANN, L. SULLIVAN, D. BERRY, T. CARLSON, R. B. MINNIS, J. B. PAYEUR & J. SIKARSKIE. (1997) Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. *Journal of Wildlife Diseases* **33**, 749-758
- SERRAINO, A., G. MARCHETTI, V. SANGUINETTI, M. C. ROSSI, R. G. ZANONI, L. CATOZZI, A. BANDERA, W. DINI, W. MIGNONE, F. FRANZETTI & A. GORI. (1999) Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques. *Journal of Clinical Microbiology* **37**, 2766-2771
- SISSON, S. & J. D. GROSSMAN. (1959). *The Anatomy of Domestic Animals*. Philadelphia, W. B. Saunders. p 736
- WHITING, T. L. & S. V. TESSARO. (1994) An abattoir study of tuberculosis in a herd of farmed elk. *Canadian Veterinary Journal* **35**, 497-501

Table 1. Severity score of tuberculosis-like lesions

1. No visible lesions
2. Lesions in at least one type of lymph nodes (retropharyngeal, pulmonary<sup>1</sup> or mesenteric) and no lesions in internal organs
3. Lesions in internal organs in a single site (thorax, abdomen or other<sup>2</sup>) with or without lymph node lesions
4. Lesions in internal organs in at least two sites (thorax, abdomen or other<sup>2</sup>) with or without lymph node lesions

<sup>1</sup> includes tracheal, bronchial and mediastinal nodes

<sup>2</sup> skin, mammary gland, spine or leg joints

Table 2. Number of red deer and wild boar by lesion score according to *M. bovis* infection status of the animals

Score	Red deer			Wild boar		
	Infected	Non-infected	Total	Infected	Non-infected	Total
1	3	107	110	15	76	91
2	14	1	15	39	11	50
3	10	2	12	11	3	14
4	6	2	8	0	0	0
Total	33	112	145	65	90	155

Table 3. Number of red deer and wild boar found to have gross lesions compatible with tuberculosis in the lymph node listed according to *M. bovis* infection status of the animals

Lymphatic node	Red deer			Wild boar					
	Retropharyngeal	Pulmonary	Mesenteric	Infected	Non-infected	Total	Infected	Non-infected	Total
+	+	+	+	1	0	1	1	0	1
+	+	+	-	0	0	0	5	0	5
+	+	-	+	2	1	3	5	0	5
+	+	-	-	1	0	1	35	12	47
-	-	+	+	1	0	1	2	0	2
-	-	+	-	0	0	0	1	0	1
-	-	-	+	21	2	23	0	0	0
-	-	-	-	7	109	116	16	78	94
Total				33	112	145	65	90	155

## 6.2. Programme informatique

```
# Les résultats des enquêtes

prevalence <-
  rbind("2001" = c(J = .11, A = .13, C = .12, S1 = .07, S2 = .29),
        "2005" = c(J = .14, A = .32, C = .24, S1 = .14, S2 = .42),
        "2006" = c(J = NA, A = NA, C = .071, S1 = .32, S2 = .32))

# Chargement des données plan de chasse
plan.chasse <- read.delim("chasse1.txt")
plan.chasse <- cbind(plan.chasse, A = plan.chasse$M + plan.chasse$F)
rownames(plan.chasse) <- paste(plan.chasse$yr)
plan.chasse <- plan.chasse[paste(1994:2006), c("J", "A", "S")]

# Dimensions
dims <- list(espece = c("cerf", "sanglier"),
            age = paste(1:3),
            sante = c("S", "E", "I"))

# mu: mortalité estimée à partir des plans de chasse moyens 1994-2001
# (avant les mesures de lutte), et de la fécondité effective (lambda)
mu <- array(0, dim = c(2, 3), dimnames = dims[1:2])
lambda <- c(cerf = .7, sanglier = 5.8)
chasse <- c(J = mean(plan.chasse[paste(1994:2001), "J"]),
           A = mean(plan.chasse[paste(1994:2001), "A"]),
           S = mean(plan.chasse[paste(1994:2001), "S"]))
mu["cerf", 1] <- chasse[["J"]] / (chasse[["J"]] + chasse[["A"]])
mu["cerf", 2:3] <-
  uniroot(function(mu, lambda, s0) {
    1 - .5 * lambda * s0 * (1 - mu)**2 / mu },
    c(1e-5, 1-1e-5),
    lambda = lambda[["cerf"]],
    s0 = 1 - mu["cerf", 1])$root
mu["sanglier", ] <-
  uniroot(function(mu, lambda) { 1 - .5 * lambda * (1 - mu)**3 / mu },
    c(1e-5, 1-1e-5), lambda = lambda[["sanglier"]])$root

# Nombre d'animaux qui naissent chaque année (n) et taille de la population
# après la chasse et avant les naissances (N)
n <- c(cerf = chasse[["J"]] + chasse[["A"]],
      sanglier = chasse[["S"]] / (1 - mu["sanglier", 1]))
N <- n * (1 - mu[, 1]) / mu[, 2]

# K, gamma: reproduction
gamma <- c(cerf = 1, sanglier = 7)
K <- N * gamma / (gamma - lambda)
```

```

# etat: variable d'état
etat <- array(0, dim = c(2, 3, 3), dimnames = dims)
etat[, "S"] <- cbind(n * (1 - mu[, 1]),
                    n * apply(1 - mu[, 1:2], 1, prod),
                    n * apply(1 - mu[, 1:3], 1, prod) / mu[, 3])

# La fonction de simulation
# param: les paramètres estimés lorsque la fonction est utilisée par nlminb,
#       un vecteur à 5 cases:
#       1: beta["cerf", "cerf"]
#       2: k tq beta["sanglier", "sanglier"] = k * beta["cerf", "cerf"],
#          nu["sanglier"] = k * nu["cerf"] et
#          phi["sanglier",] = k * phi["cerf",]
#       3: nu["cerf"]
#       4: k tq phi["cerf", "cerf"] = k * beta["cerf", "cerf"]
#       5: k tq phi[, "sanglier"] = k * phi[, "cerf"]
# years: années de simulation (vecteur de chaînes de caractère)
# phi.q: réduction de la contagion par les carcasses induite par les mesures
#       de contrôle.
#       une année a: phi.q = 0 si yr > a et phi.q = 1 sinon
#       ou un vecteur de nombres 0-1 de même longueur que years
# nb.contam: nombre d'animaux contaminés au début de l'année years[1]
# do.return: quelle valeur doit retourner la fonction ?
#       "SCE": somme des carrés d'écart de prévalence prédit-observé pour les
#             deux enquêtes (prévalences cerfs adultes, juvéniles et sangliers)
#       "prédiction": les prévalences prédites pour 2001-02, 2005-06 et 2006-07
#       "parametres": les valeurs de beta, nu et phi.p
#       "chassable": les effectifs (la variable d'état) avant la chasse
#                   dimension: length(years) x dimension(etat)
#       "population": les effectifs (la variable d'état) après la chasse
#                   dimension: length(years) x dimension(etat)
#       "chasse": les effectifs chassés (même dimensions)
# mu.controle: valeurs de mu utilisées pour la projection après 2006,
#             pendant la période de contrôle (après on revient aux valeurs par défaut
#             de mu)
# duree.controle: en années après 2006
# use.2006: faut-il ou pas utiliser la prévalence sanglier de 2006-07 pour
#           l'estimation

simulation <- fonction(param = NULL,
                      years = paste(1996:2006),
                      phi.min = 0.01,
                      phi.q = 2002,
                      nb.contam = c(cerf = 1, sanglier = 0),
                      do.return = 'prediction',
                      mu.controle = c(A = .7, J = .7, S = .7),
                      duree.controle = 1,
                      use.2006 = FALSE) {

```

```

# Utilisation ou pas des données 2006-07 (dans tous les cas les données
# cerfs -lésions macro- ne sont pas utilisées)
if (do.return == "SCE") {
  if (!use.2006) prevalence <- prevalence[1:2,]
  else prevalence["2006", "C"] <- NA
}

# Récupération des paramètres
if (is.null(param)) param <- c(.2, .5, .2, .2, 3)
mu.defaut <- mu

# beta: transmission horizontale
beta <- matrix(0, length(dims$espece), length(dims$espece))
colnames(beta) <- dims$espece
rownames(beta) <- dims$espece
beta["cerf", "cerf"] <- param[1]
beta["sanglier", "sanglier"] <- param[2] * beta["cerf", "cerf"]

# nu: transmission pseudo-verticale
nu <- c("cerf" = 0, "sanglier" = 0)
nu["cerf"] <- param[3]
nu["sanglier"] <- param[2] * nu["cerf"]

# phi.p: contagion par des animaux morts
phi.p <- matrix(0, length(dims$espece), length(dims$espece))
colnames(phi.p) <- dims$espece
rownames(phi.p) <- dims$espece
phi.p["cerf", "cerf"] <- param[4] * beta["cerf", "cerf"]
phi.p["cerf", "sanglier"] <- param[5] * phi.p["cerf", "cerf"]
phi.p["sanglier", ] <- param[2] * phi.p["cerf", ]
yr.contam <- years[1]
param <- list(beta = beta, nu = nu, phi.p = phi.p, mu = list())

# phi.q: proportion de non-enlèvement des viscères (facteur de
# réduction de phi.p)
if (length(phi.q) == 1) {
  yr <- as.numeric(phi.q)
  phi.q <- rep(1, length(years))
  phi.q[years >= yr] <- phi.min
}
names(phi.q) <- years

# variables de sortie
chasse <- array(0, c(length(years), dim(etat)),
  dimnames = c(list(years), dims))
chassable <- chasse
population <- chasse

```

```

# boucle de simulation
for (t in years) {

  lambda <- gamma * (1 - pmin(1, apply(etat, 1, sum) / K))

  if (t == paste(yr.contam)) {
    etat[, 3, "S"] <- etat[, 3, "S"] - nb.contam
    etat[, 3, "E"] <- etat[, 3, "E"] + nb.contam
  }
  phi <- phi.p * phi.q[[t]]
  if (t %in% paste(2002:2006)) {
    # Pour la période avec mesures de contrôle on utilise les nombres
    # d'animaux effectivement abattus
    mu["sanglier",] <- plan.chasse[t, "S"] / sum(etat["sanglier",,])
    mu["cerf", 2:3] <- plan.chasse[t, c("A")] / sum(etat["cerf",,])
    mu["cerf", 1] <- plan.chasse[t, "J"] /
      (0.5 * lambda["cerf"] * sum(etat["cerf", 3,]))
    param$mu[[paste(t)]] <- mu
  } else if (as.numeric(t) %in% seq(2007, length.out = duree.controle)) {
    mu["cerf", 1] <- mu.controle[["J"]]
    mu["cerf", 2:3] <- mu.controle[["A"]]
    mu["sanglier",] <- mu.controle[["S"]]
  } else if (as.numeric(t) == 2007 + duree.controle) mu <- mu.defaut

  # Pour la projection, s'il y a moins d'un animal infecté, on considère
  # que l'épizootie est terminée
  if (as.numeric(t) >= 2007) {
    if (sum(etat["cerf",, c("E", "I")]) < 1)
      etat["cerf",, c("E", "I")] = 0
    if (sum(etat["sanglier",, c("E", "I")]) < 1)
      etat["sanglier",, c("E", "I")] = 0
  }

  V <- etat[, "3", "I"] / apply(etat[, "3",,], 1, sum)
  H <- apply(etat[,, "I"], 1, sum) / apply(etat, 1, sum)
  r <- 1 - exp(-nu * V - colSums(beta * H))
  p <- 1 - exp(-colSums(beta * H))

  # Evolution de l'état de santé
  juveniles <- array(0, dim = c(2, 3),
    dimnames = list(dims$espece, dims$sante))
  juveniles[, "S"] <- (1 - r) * 0.5 * lambda * apply(etat[, "3",,], 1, sum)
  juveniles[, "E"] <- r * 0.5 * lambda * apply(etat[, "3",,], 1, sum)
  contamines <- p * etat[,, "S"]
  etat[,, "I"] <- etat[,, "I"] + etat[,, "E"]
  etat[,, "E"] <- contamines
  etat[,, "S"] <- etat[,, "S"] - contamines

```

```

# Vieillessement
etat[, "3",] <- etat[, "3",] + etat[, "2",]
etat[, "2",] <- etat[, "1",]
etat[, "1",] <- juveniles

# Sortie: animaux chassables
chassable[t,,] <- etat

# Chasse
mortalite <- etat
for (sante in dims$sante) mortalite[, sante] <- etat[, sante] * mu
etat <- etat - mortalite

# Sortie: animaux chassés
chasse[t,,] <- mortalite

# Contamination par les cadavres
J <- apply(mortalite[, "I"], 1, sum) / apply(mortalite, 1, sum)
q <- 1 - exp(-colSums(phi * J))
contamines <- q * etat[, "S"]
etat[, "E"] <- etat[, "E"] + contaminés
etat[, "S"] <- etat[, "S"] - contaminés

# Sortie: population
population[t,,] <- etat
}

# Valeurs de prévalence prédites
prediction <- NULL
if (do.return %in% c("prediction", "SCE")) {
  for (yr in rownames(prevalence)) {
    predict <- c(J = sum(chasse[yr, "cerf", 1:2, c("E", "I")]) /
      sum(chasse[yr, "cerf", 1:2, ]),
      A = sum(chasse[yr, "cerf", 3, c("E", "I")]) /
      sum(chasse[yr, "cerf", 3, ]),
      C = sum(chasse[yr, "cerf",, c("E", "I")]) /
      sum(chasse[yr, "cerf",, ]),
      S = sum(chasse[yr, "sanglier",, c("E", "I")]) /
      sum(chasse[yr, "sanglier",, ]))
    prediction <- rbind(prediction, predict)
  }
  rownames(prediction) <- rownames(prevalence)
}

# SCE
if (do.return == "SCE") {
  d1 <- (prevalence[, c("J", "A")] - prediction[, c("J", "A")])
  d2 <- (prevalence["2006", "C"] - prediction["2006", "C"])
  d3 <- (prediction[, "S"] <= prevalence[, "S1"]) *
    (prediction[, "S"] - prevalence[, "S1"])
}

```

```

d4 <- (prediction[, "S"] > prevalence[, "S2"]) *
      (prediction[, "S"] - prevalence[, "S2"])
sce <- sum(d1**2, na.rm = T) + 2 * sum(d2**2, na.rm = T) +
      2*sum(d3**2, na.rm = T) + 2*sum(d4**2, na.rm = T)
}

# Valeur retournée
if (do.return == 'SCE') return(sce)
else if (do.return == 'prediction') return(prediction)
else if (do.return == 'parametres') return(param)
else if (do.return == 'chassable') return(chassable)
else if (do.return == 'population') return(population)
else return(chasse)
}

# Boucle
resultat <- NULL
for (year in c(1985, 1990, 1995))
  for (phi.min in c(0.01, 0.10)) {

    cat(year, phi.min, '\n')
    years <- paste(year:2006)
    phi.q <- 2002

    # Tirage au sort des valeurs initiales des paramètres estimés
    param.ini <- runif(5, 0, 1)

    # Valeurs limites de chaque paramètre estimé
    param.low <- c(0, 0, 0, 0, 0)
    param.upp <- c(100, 100, 100, 1000, 100)

    # Procédure d'estimation
    estimate <- nlminb(param.ini, simulation,
                      lower = param.low,
                      upper = param.upp,
                      control = list(trace = 1,
                                     iter.max = 10000,
                                     eval.max = 50000),
                      do.return = "SCE",
                      use.2006 = TRUE,
                      years = years,
                      phi.q = phi.q,
                      phi.min = phi.min)

    # Récupération des résultats
    resultat <- rbind(resultat,
                      c(year, phi.min, estimate$par,
                        estimate$objective, estimate$convergence,
                        estimate$iterations))
    colnames(resultat) <- c("yr", "phi.min",

```

```

        "p1", "p2", "p3", "p4", "p5",
        "SCE", "convergence", "iterations")
write.table(resultat, "resultat.txt", append = FALSE, sep = '\t',
            dec = ',', row.names = FALSE)
}

source('modele4.lib.r')
param <- read.delim('resultat.txt', dec = ',')

graphique <- function(yr, phi.min, id = NULL) {
  if (is.null(id)) id<-paste(yr, phi.min, sep = '-')
  i <- which((param$yr == yr) & (param$phi.min == phi.min))
  if (length(i) == 0) return
  p <- as.numeric(param[i, c('p1', 'p2', 'p3', 'p4', 'p5')])
  x <- simulation(p, do.return='chasse',
                years = paste(yr:2006), phi.q = phi.q, phi.min = phi.min)
  windows(width = 1.9, height = 1.9)
  par(mgp = c(2,.5,0))
  par(mar = c(3.5,3.5,.5,0.75)+.01)
  par(cex = .7)
  plot(as.numeric(dimnames(x)[[1]]),
       apply(x[, "cerf" ,,c("E", "I")],1,sum)/apply(x[, "cerf" ,,],1,sum),
       type = 'l', lwd = 2, col = 'red',
       xlab = "Années", ylab = "Prévalence", ylim = c(0, .5))
  lines(as.numeric(dimnames(x)[[1]]),
        apply(x[, "cerf", 1:2,c("E", "I")],1,sum)/apply(x[, "cerf", 1:2,],1,sum),
        lty = 2, col = 'red')
  lines(as.numeric(dimnames(x)[[1]]),
        apply(x[, "cerf", 3,c("E", "I")],1,sum)/apply(x[, "cerf", 3,],1,sum),
        lty = 3, col = 'red')
  lines(as.numeric(dimnames(x)[[1]]),
        apply(x[, "sanglier" ,,c("E", "I")],1,sum)/apply(x[, "sanglier" ,,],1,sum))
  points(rep(2001, 2), prevalence["2001", c("J", "A")], pch = 16, col = 'red',
         cex = 1.5)
  points(rep(2005, 2), prevalence["2005", c("J", "A")], pch = 16, col = 'red',
         cex = 1.5)
  points(2006, prevalence["2006", "C"], pch = 16, col = 'red', cex = 1.5)
  points(rep(2001, 2), prevalence["2001", c("S1", "S2")], pch = 2, cex = 1.5)
  points(rep(2005, 2), prevalence["2005", c("S1", "S2")], pch = 2, cex = 1.5)
  points(2006, prevalence["2006", "S1"], pch = 2, cex = 1.5)
  text(yr, 0.5, id, adj = c(0, 1))
}

# Figures de projection
projection <- function(p.yr, p.phi.min,
                      phi.min = 0,
                      mu.controle = c(A = .7, J = .7, S = .7),
                      duree.controle = 3,
                      pr = 2020,
                      show.plot = FALSE) {

```

```

i <- which((param$yr == p.yr) & (param$phi.min == p.phi.min))
if (length(i) == 0) return
p <- as.numeric(param[i, c('p1', 'p2', 'p3', 'p4', 'p5')])
q <- c(rep(1, length(p.yr:2001)), rep(p.phi.min, 5),
      rep(phi.min, length(2007:pr)))
x <- simulation(p, do.return='chassable',
              years = paste(p.yr:pr),
              phi.q = q,
              duree.controle = duree.controle,
              mu.controle = mu.controle)

if (show.plot) {
  windows(width = 1.9, height = 1.9)
  par(mgp = c(2,.5,0))
  par(mar = c(3.5,3.5,.5,0.75)+.01)
  par(cex = .7)
  plot(as.numeric(dimnames(x)[[1]]), apply(x[, "cerf" ,, 1, sum), type = 'l',
      xlab = "années", ylab = "Cerfs", ylim = c(0, 150))
  lines(as.numeric(dimnames(x)[[1]]), apply(x[, "cerf" ,, c("E", "I")], 1, sum),
      lwd = 2)

  windows(width = 1.9, height = 1.9)
  par(mgp = c(2,.5,0))
  par(mar = c(3.5,3.5,.5,0.75)+.01)
  par(cex = .7)
  plot(as.numeric(dimnames(x)[[1]]), apply(x[, "sanglier" ,, 1, sum), type = 'l',
      xlab = "années", ylab = "Sangliers", ylim = c(0, 1500))
  lines(as.numeric(dimnames(x)[[1]]), apply(x[, "sanglier" ,, c("E", "I")], 1, sum),
      lwd = 2)
}

cat("Population en fin de simulation:\n")
print(c(cerf = sum(x[paste(pr), "cerf" ,, ]),
      sanglier = sum(x[paste(pr), "sanglier" ,, ])))

cat("Infectés en fin de simulation:\n")
print(c(cerf = sum(x[paste(pr), "cerf" ,, c("E", "I")],
      sanglier = sum(x[paste(pr), "sanglier" ,, c("E", "I")]))))

cat("Nombre minimal d'infectés après 2006:\n")
print(c(cerf = min(apply(x[paste(2006:pr), "cerf" ,, c("E", "I")], 1, sum)),
      sanglier = min(apply(x[paste(2006:pr), "sanglier" ,, c("E", "I")],
          1, sum))))

return(cbind(inf.cerf = apply(x[paste(2006:pr), "cerf" ,, c("E", "I")], 1, sum),
            inf.sanglier = apply(x[paste(2006:pr), "sanglier" ,, c("E", "I")], 1, sum),
            nb.cerf = apply(x[paste(2006:pr), "cerf" ,, ], 1, sum),
            nb.sanglier = apply(x[paste(2006:pr), "sanglier" ,, ], 1, sum)))
}

```

```

mu.default <- c(A = mu["cerf", 2], J = mu["cerf", 1], S = mu["sanglier", 1])
mu.eradication <- c(A = 0.9999, J = 0.9999, S = mu["sanglier", 1])

i <- which((param$yr == 1995) & (param$phi.min == 0.1))
p <- as.numeric(param[i, c('p1', 'p2', 'p3', 'p4', 'p5')])
x <- simulation(p, years = paste(1995:2006), phi.min = 0.1,
              do.return = 'parametres')
mu.surcharge <- c(A = x$mu$'2006'["cerf", 2], J = x$mu$'2006'["cerf", 1],
                 S = x$mu$'2006'["sanglier", 1])

p1 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0, mu.controle = mu.default,
                duree.controle = 0, pr = 2200)
p2 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0.1, mu.controle = mu.default,
                duree.controle = 0, pr = 2200)
p3 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 1, mu.controle = mu.default,
                duree.controle = 0, pr = 2200)
p4 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0, mu.controle = mu.eradication,
                duree.controle = 1, pr = 2200)
p5 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0.1, mu.controle = mu.eradication,
                duree.controle = 1, pr = 2200)
p6 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 1, mu.controle = mu.eradication,
                duree.controle = 1, pr = 2200)
p7 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0, mu.controle = mu.surcharge,
                duree.controle = 5, pr = 2200)
p8 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 0.1, mu.controle = mu.surcharge,
                duree.controle = 5, pr = 2200)
p9 <- projection(1995, 0.1, phi.min = 1, mu.controle = mu.surcharge,
                duree.controle = 5, pr = 2200)

```

---

**RESUME : TUBERCULOSE BOVINE DANS UNE POPULATION DE CERFS ET DE SANGLIERS SAUVAGES : EPIDEMIOLOGIE ET MODELISATION**

Deux enquêtes épidémiologiques mises en place dans les forêts de Brotonne et de Mauny, en Normandie, ont montré que la tuberculose à *Mycobacterium bovis* était présente à des pourcentages de prévalence importants chez les cerfs élaphe (*Cervus elaphus*) et les sangliers (*Sus scrofa*). La souche de *M. bovis* isolée est la même que celle qui circule dans les élevages bovins voisins depuis au moins 1995. Les sensibilité, spécificité et valeurs prédictives de l'examen nécropsique en tant qu'outil diagnostique indiquent qu'il peut être utilisé pour suivre la maladie dans les populations de cerfs élaphe où la tuberculose bovine est bien installée. La différence du cadre lésionnel entre les cerfs et les sangliers suggère que le cerf joue un rôle plus important dans la dissémination de l'infection. Un modèle déterministe montre qu'une stratégie de lutte fondée sur l'éradication des cerfs élaphe et sur un ramassage exhaustif de viscères permettrait d'obtenir une disparition de l'infection.

---

**SUMMARY: BOVINE TUBERCULOSIS IN A POPULATION OF WILD RED DEER AND WILD BOAR: EPIDEMIOLOGY AND MODELLING**

Two epidemiological surveys conducted in the Brotonne and Mauny forests, Normandy, showed that the percentage of *Mycobacterium bovis* prevalence was important in red deer (*Cervus elaphus*) and wild boar (*Sus scrofa*). The genotype of the strains isolated from wildlife is the same as that of the strains circulating in nearby cattle herds since 1995. Sensitivity, specificity, and predictive values of the presence of macroscopic lesions seems to be satisfactory as a diagnostic criterion to monitor the disease in wild red deer populations in which bovine tuberculosis has become established. The different patterns of tuberculosis lesions between red deer and wild boar suggest that red deer would play an important role in dissemination of the infection. A deterministic model shows that the control strategy based on red deer eradication and exhaustive viscera harvest allows obtaining eradication of the infection.

---

**MOTS-CLES**

*Mycobacterium bovis*, *Cervus elaphus*, cerf élaphe, *Sus scrofa*, sanglier, typage moléculaire, test diagnostique, modèle

---

**KEY WORDS**

*Mycobacterium bovis*, *Cervus elaphus*, red deer, *Sus scrofa*, wild boar, molecular typing, diagnostic test, model

---

**INTITULE ET ADRESSE DE L'UNITE OU LA THESE A ETE PREPAREE :**

Unité épidémiologie, AFSSA Alfort, 23, avenue du Général de Gaulle  
94706 MAISONS-ALFORT Cedex