



HAL
open science

Epidémiologie de zoonoses du sanglier (*Sus scrofa*) dans un milieu méditerranéen insulaire, la Corse

Céline Richomme

► **To cite this version:**

Céline Richomme. Epidémiologie de zoonoses du sanglier (*Sus scrofa*) dans un milieu méditerranéen insulaire, la Corse. Biologie animale. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2009. Français. NNT : 2009CLF21974 . tel-00724959

HAL Id: tel-00724959

<https://theses.hal.science/tel-00724959>

Submitted on 23 Aug 2012

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.

ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Thèse n°511

Présentée par

Céline RICHOMME

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Ecologie

**Epidémiologie de zoonoses du Sanglier (*Sus scrofa*)
dans un milieu méditerranéen insulaire, la Corse**



UR346 Unité d'Epidémiologie Animale, INRA Clermont-Ferrand – Theix
UMR CNRS 5558 Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Université Lyon 1



Soutenue publiquement le 3 novembre 2009

Jury

Christian AMBLARD (Directeur de Recherche, Université Clermont-Ferrand)	Président
Pascal BOIREAU (Directeur de Recherche, AFSSA)	Examineur
François CASABIANCA (Ingénieur de recherche, INRA)	Examineur
Jean HARS (Inspecteur de la Santé Publique Vétérinaire, ONCFS)	Examineur
Denise BELANGER (Professeur, Université de Montréal)	Rapporteur
Didier CALAVAS (Ingénieur de Recherche, AFSSA)	Rapporteur
Emmanuelle GILOT-FROMONT (Professeur, ENVL - Université de Lyon 1)	Directrice de thèse
Christian DUCROT (Directeur de Recherche, INRA)	Directeur de thèse

Cette thèse a pour objectif l'étude épidémiologique de zoonoses chez le sanglier en Corse afin d'éclairer l'analyse et la gestion du risque zoonotique.

La première partie décrit la démarche d'analyse du risque et les données nécessaires à son estimation, met en évidence que le sanglier, porteur potentiel de nombreux agents pathogènes, est un modèle biologique intéressant pour le suivi de maladies transmissibles à l'Homme par ingestion ou manipulation de carcasses, et décrit le contexte d'étude, la Corse, notamment sur le plan cynégétique et de l'élevage.

La seconde partie présente le dispositif mis en place pour la collecte des données, un réseau d'épidémiosurveillance active à l'échelle de la région insulaire, puis l'étude épidémiologique de trois agents zoonotiques (respectivement maladies) : *Trichinella britovi* (trichinellose), *Toxoplasma gondii* (toxoplasmose) et *Mycobacterium bovis* (tuberculose bovine).

A l'issue de nos travaux, le risque de trichinellose, avéré en 2004, demeure difficile à évaluer mais plausible, nécessitant le maintien des consignes de prévention (cuisson de la viande, test des carcasses commercialisées). Le risque de toxoplasmose est fort sur l'ensemble de l'île, et davantage encore dans les zones à forte densité d'exploitations agricoles. Le risque de tuberculose apparaît majeur à considérer, le bacille étant présent à la fois chez des sangliers et chez des porcs ou bovins de quatre régions corses. Nos travaux concluent en l'importance d'une meilleure gestion des carcasses et viscères d'animaux sauvages et domestiques, et la nécessité d'une coordination pérenne du dispositif mis en place pour le suivi des zoonoses en Corse.

Mots-clés : épidémiologie, facteurs de risque, zoonoses, *Trichinella britovi*, *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium bovis*, faune sauvage, gibier, sanglier.

Epidemiology of zoonosis in wild boar (*Sus scrofa*) from an insular Mediterranean region, Corsica

This thesis aimed to study the epidemiology of zoonosis in wild boar in Corsica and to provide new elements to analyse and manage the zoonotic risk.

The first bibliographical part describes how to analyse a zoonotic risk and which data are needed to estimate it, highlights that wild boar is potentially carrier of numerous pathogens and is a good biological model to survey diseases transmitted to Humans by ingestion or carcass handling, and finally presents the hunting and breeding context in Corsica.

The second part presents the active surveillance device built on the whole island to collect epidemiological data, and then the study of three zoonotic pathogens (respectively diseases): *Trichinella britovi* (trichinellosis), *Toxoplasma gondii* (toxoplasmosis) and *Mycobacterium bovis* (bovin tuberculosis).

We firstly showed that, although an outbreak of trichinellosis was detected in 2004 in pigs and one fox, the risk is difficult to estimate nowadays due to difficulties in interpreting diagnostic tests in wildlife. However, the risk is still potential and preventive practices need to be maintained (cooking meat, systematic test of commercialised carcasses). Secondly, we show evidence of a strong risk of toxoplasmosis on the whole island, which is stronger in areas with high farm densities. Thirdly, the risk of tuberculosis appears a major one to consider, *M. bovis* of identical genotypes being found in wild boars, cattle, and pigs of the same areas. Finally, our work leads to suggest a better management of wild and domestic carcasses, and the need of a long-term coordination of the surveillance device built to study zoonosis and detect emerging diseases in Corsica.

Key-words: epidemiology, risk factors, zoonosis, *Trichinella britovi*, *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium bovis*, wildlife, wild game, wild boar.

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse doit tant et plus à ceux que mon chemin a croisés depuis le début de cette aventure corse et auparavant. Cette page leur est consacrée.

Tout d'abord, ma plus sincère reconnaissance aux membres du jury...

A Christian Ducrot qui m'a accordé sa confiance, d'emblée et sans retenue.

A Emmanuelle Gilot-Fromont qui a accepté de reprendre du service à mes côtés.

A vous deux, ma plus profonde et sincère reconnaissance pour votre rigueur et exigence, votre soutien, vos conseils et encouragements. De travailler sous votre direction, propre et associée, fut un plaisir et source d'un enrichissement professionnel et personnel, dont j'espère être digne.

A Denise Bélanger et Didier Calavas qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce manuscrit.

A Christian Amblard correspondant universitaire et examinateur de ce travail.

A Pascal Boireau et François Casabianca qui étaient parmi les initiateurs du volet *Animal* du programme ANR BioScope et qui m'ont soutenue tout au long de ces 3 années.

A Jean Hars qui me fait l'honneur d'être examinateur de ce travail en tant que *spécialiste* des maladies du sanglier.

Pour leur collaboration et implication essentielle au bon déroulement du projet en Corse, merci...

A tous les agents du LRDE de l'INRA à Corte. Ma gratitude particulière à François Casabianca sans qui ce travail n'aurait pu être entrepris et mené à bien, à Rémi Bouche (directeur du LRDE) pour m'avoir soutenue chaleureusement et intégrée à la vie du laboratoire, à Oscar Maestrini sans qui ce travail n'aurait jamais eu la même portée (*mention très spéciale à toi p.181 !*), à Florian Gueniot et Jean-Baptiste Marchioni pour leur aide informatique et logistique, à Chjara, Estelle et Caroline pour leur complicité par delà les mers, à Adeline Lambert-Derkimba (compère de bureau n°1) pour sa bienveillance dès mon arrivée et son soutien permanent.

Aux Services Vétérinaires de Haute-Corse et de Corse-du-Sud et tout particulièrement à Julie Lacanal, Alexandre Bouchot, Nicolas Fradin, Loïc Gouello, Vincent Delor, Yvan Le Rasle, Guillaume Chenut, Guy Bousquet et Jacques Parodi.

A Michèle Riera et le personnel du LDAV à Ajaccio.

A Marc Memmi, Jean-Marc Santini, Estelle, Laëtitia et le personnel du LDAV à Bastia et Corte.

A la Fédération des Chasseurs de Corse-du-Sud et en particulier à Paul Etori (président), Stéphane Pedinielli et Victor Acquaviva (techniciens), et à ses administrateurs, notamment Francis Tramoni et Ange Manenti.

A la Fédération des Chasseurs de Haute-Corse et en particulier à Jean-Baptiste Mari et Antoine François Battini (administrateurs).

Aux chasseurs de Corse ayant participé au programme et en particulier à Eugène, Françoise et Pierre Jean Cesari, Jean-Claude Vittori, Pierre Benedetti, André Alfonsi, Bruno Tomu, Mimi Costa, Grégory Romani, Jules Matthieu Battini, Philippe Albertini, Charles Ottavi, Emmanuel Aledo, Michel Olanda, François Marchetti, Ange Bernardini, Pierre Paul Giacobetti, Jean-Louis Luigi, Marc Luccioni, Antoine Giacomoni, Jean-François Mondoloni, Jean Stacchino, Dominique Versini, Emile Nesi, Gérard Milleliri, Jacques Capretti, Etienne Leandri, Mario et Dante Pagnini, Dominique Bonchristiani,

Jean-Claude Versini, Joseph Orsini, Pierre Jean Poggiale, Pierre Cani, Jean Versini, Jean-Dominique Franchi, Antoine Poggioli.

Aux Lieutenants de Louveterie de Corse et notamment à Thomas Gianelli (président régional), José Ferrandi (président Haute-Corse), Jacky Mark, Francis Tramoni, Antoine Paolini, Alain Valentini, Nicolas Croce, Jean-Baptiste Mari, Antoine-François Battini, Hervé Monti, Bastien Rossi.

Aux vétérinaires de Corse et en particulier à Jean-François Gauthier (président du GTV), Nicolas Joannides, la Clinique Vétérinaire de Balagne, Dominique Casalta, Jean-Marie Bernard-Tomasi, Marie-Hélène Filippi, Thierry Cappe, et à Myriam Chaudron et Aymeric Benard de la FRGDS.

A Luc Texier, Pierre Benedetti, Nicolas Croce, Jean-Paul Mariani de l'ONCFS en Corse.

Aux collègues de l'INSERM et du Réseau *Sentinelle* en Corse, Jean-Pierre Amoros et Christophe Arena, et du Laboratoire de Virologie de l'Université de Corse, Laurent Varesi et Alexandra Falchi.

Par ailleurs, tous mes remerciements...

A Fabienne Biteau-Coroller, par qui cette aventure a commencée.

A Philippe Pluvillage et Gwenaël Vourc'h pour m'avoir soutenue et encouragée dès le début.

A toute l'unité d'Epidémiologie Animale de l'INRA à Theix, pour son accueil, son soutien et sa bonne humeur. Gratitude particulière à Françoise Ondet pour son aide précieuse y compris à distance, à Patrick Gasqui pour sa contribution éclairée à la partie analytique de ce travail, à David Abrial, Jocelyn De Goer et Nelly Dorr pour leur aide informatique et au traitement des données, à Mathilde Paul et Maud Marsot pour leur aide toujours enthousiaste, à Alexandre Fediaevsky (compère de bureau n°2) pour ses encouragements et conseils lumineux.

Aux laboratoires BIPAR et UZB du LERPAZ l'AFSSA, pour leurs collaborations essentielles à ces travaux. Remerciements particuliers à Pascal Boireau, Isabelle Vallée, Sandrine Lacour, Pauline Macé, Maria-Laura Boschioli et Lénaïg Halos.

A Dominique Aubert, Isabelle Villena, Régine Geers, Daniel Ajzenberg, Aurélien Mercier et Marie-Laure Dardé du Centre National de Référence de la Toxoplasmose pour leur collaboration enthousiaste et efficace.

A Eve Afonso et Vincent Tolon du Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive de l'Université de Lyon. Un gros gros merci à vous deux pour votre aide éclairante et majeure dans l'analyse des données de toxoplasmose.

A Marie-Laure de Lignette de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, pour l'analyse statistique de données sérologiques de trichinellose.

Et finalement, pour leur soutien constant malgré la distance et les vagues, *affectueusement* merci...

A mes parents, Jeanne-Marie & Alain, à mes frère, sœur, conjoints et nièces: Gwénaël & Agnès, Delphine, Caroline et Véronique & Michel.

A Georgette & Gérard, Christelle & Guillaume, Anne, la tribu des Ecrins, les cliques du lycée, de prépa et véto (*une spéciale pour Olivier, clin d'œil incontournable de cette page*) et «la gang» Jobin d'Outre-Atlantique.

A Stéphane, qui m'accompagne quelles que soient l'altitude et la latitude, toujours souriant, prévenant et patient. *A nos prochaines aventures...*

A ma grand-mère Thérèse

*A Rémi Bouche
A Victor Acquaviva*

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ	3
ABSTRACT	4
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	7
SIGLES ET ABRÉVIATIONS	11
LISTE DES TABLES ET FIGURES	12
AVANT-PROPOS	14
INTRODUCTION	15
<hr/>	
PREMIÈRE PARTIE : LE SANGLIER, UN GIBIER SAUVAGE SOURCE D'AGENTS ZONOTIQUES	17
<hr/>	
I. Gibier sauvage et risque zoonotique	19
<i>I.1. Importance des zoonoses et rôle de la faune sauvage</i>	19
<i>I.2. Risque zoonotique et analyse de risque</i>	21
<i>I.3. Gibier sauvage et réglementation sanitaire</i>	23
I.3.1. Définitions liées au gibier et conséquences	23
I.3.2. Réglementation des modalités de cession du gibier sauvage	24
<i>I.4. Risque zoonotique et gibier</i>	25
I.4.1. Modalités de transmission.....	25
I.4.2. Zoonoses liées aux oiseaux	26
I.4.3. Zoonoses liées aux lagomorphes.....	26
I.4.3. Zoonoses liées au grand gibier.....	27
II. Le sanglier, un modèle biologique pour l'étude des zoonoses	30
<i>II.1. Répartition et place du sanglier dans les activités de chasse</i>	30
<i>II.2. Biologie de l'espèce et conséquences en épidémiologie</i>	33
II.2.1. Biotope et occupation de l'espace	33
II.2.2. Régime et comportement alimentaire	34
II.2.3. Organisation sociale.....	34
II.2.4. Caractéristiques démographiques	35
II.2.5. Proximité phylogénétiques et contacts avec le Porc	37
<i>II.3. Agents pathogènes zoonotiques du sanglier</i>	38
II.3.1. Des suidés sauvages, des pathogènes... et des hommes.....	38
II.3.2. Les agents pathogènes étudiés	42
II.3.2.1. Trichinella et la trichinellose	42
II.3.2.2. Toxoplasma gondii et la toxoplasmose	51
II.3.2.3. Mycobacterium bovis et la tuberculose	57
<i>II.4. Suivi épidémiologique des zoonoses chez le sanglier</i>	63
III. Le sanglier et les zoonoses en Corse : quelle problématique ?	66
<i>III.1. La Corse</i>	66
<i>III.2. Une population mixte de suidés sauvages insulaires</i>	67
<i>III.3. La chasse au sanglier : une tradition majeure en Corse toujours d'actualité</i>	70
<i>III.4. Des interactions très fortes avec les animaux d'élevage</i>	71
<i>III.5. Problématique de l'étude en Corse</i>	74

DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DE ZONOSSES DU SANGLIER EN CORSE..... 77

I. Cadre scientifique et dispositif de l'étude.....	79
I.1. « BioScope », un programme d'observation du vivant en Méditerranée	79
I.1.1. Objet et objectifs du programme Bioscope.....	79
I.1.2. Objectifs de la rampe EpiZOO et implication de la thèse.....	80
I.2. Le dispositif d'étude : un réseau régional d'épidémiosurveillance active de zoonoses dans la faune sauvage en Corse.....	82
I.2.1. Réflexion préalable	82
I.2.2. Mobilisation des acteurs locaux.....	83
I.2.3. Organisation et fonctionnement du réseau insulaire	85
II. La trichinellose.....	89
II.1. Contexte épidémiologique et objectifs	89
II.1.1. La trichinellose en Corse avant notre étude.....	89
II.1.2. Questions épidémiologiques à traiter.....	91
II.2. <i>Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (Sus scrofa) and fox (Vulpes vulpes) in a French insular region</i>	93
II.3. Discussion et conclusions	103
II.3.1. Détection directe de la trichinellose et méthode de digestion artificielle	103
II.3.2. Exposition des sangliers à la trichinellose et test sérologique	103
II.3.2.1. Seuil de positivité du test ELISA	103
II.3.2.1. L'approche statistique : une alternative ?.....	105
II.3.3. Le sanglier et la trichinellose en Corse : avancées et perspectives.....	105
II.3.3.1. Présence et prévalence de la trichinellose	105
II.3.3.2. Risque zoonotique de trichinellose.....	106
II.3.3.3. Gestion du risque zoonotique	107
II.3.3.4. Conclusions	107
III. La toxoplasmose	109
III.1. Contexte et objectifs.....	109
III.2. <i>Genetic characterization of Toxoplasma gondii from wild boar (Sus scrofa) in France</i>	111
III.3. <i>Seroprevalence and factors associated with Toxoplasma gondii infection in wild boar (Sus scrofa) in a Mediterranean island</i>	119
III.4. Discussion et conclusions	133
III.4.1. Souches de T. gondii circulantes dans la faune sauvage	133
III.4.2. Séroprévalence et méthode sérologique	134
III.4.3. Etude analytique et variables explicatives.....	136
III.4.4. Viande de sanglier et risque zoonotique de toxoplasmose en Corse.....	139
IV. La tuberculose à Mycobacterium bovis.....	141
IV.1. Contexte et objectifs.....	141
IV.2. <i>Bovine tuberculosis in livestock and wild boar in a Mediterranean island, Corsica</i>	143
IV.3. Discussion et conclusions	150
IV.3.1. Origine et représentativité des données.....	150
IV.3.2. Cartographie des cas officiellement rapportés	150
IV.3.3. Spolygotypage des souches de M. bovis isolées en Corse	151
IV.3.4. Rôles possibles des hôtes domestiques	152
IV.3.5. Gestion des carcasses et circulation du bacille.....	153
IV.3.6. La tuberculose et la faune sauvage en Corse : des questions en suspens	154
IV.3.6.1. ... concernant le sanglier : victime ou réservoir ?	154
IV.3.6.2. ... concernant le cerf.....	156
IV.3.7. Conclusions et risque zoonotique de tuberculose en Corse	156

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION GÉNÉRALE.....	159
I. Evaluation du risque zoonotique lié au sanglier en Corse	161
<i>I.1. Identification des dangers</i>	<i>161</i>
<i>I.2. Caractérisation des dangers dans la population source.....</i>	<i>163</i>
I.2.1. Méthodologies diagnostiques.....	163
I.2.1.1. Isolement de l'agent zoonotique.....	164
I.2.1.2. Détection d'anticorps.....	165
I.2.2. Echantillonnage et connaissance de la population source.....	168
I.2.2.1. Méthodes d'échantillonnage.....	168
I.2.2.2. Population de référence	168
I.2.3. Rôle de l'hôte gibier dans la circulation du pathogène	170
<i>I.3. Estimation de l'exposition.....</i>	<i>171</i>
II. Gestion et prévention du risque zoonotique	173
<i>II.1. Lien faune domestique et faune sauvage.....</i>	<i>173</i>
<i>II.2. Contrôle et gestion des carcasses</i>	<i>174</i>
<i>II.3. La prévention par l'information</i>	<i>175</i>
II.3.1. La prévention auprès des consommateurs	176
II.3.2. La prévention auprès des chasseurs.....	177
III. Suivi épidémiologique des zoonoses du gibier en Corse : quel avenir ?	179
<i>III.1. Retour sur l'organisation et le fonctionnement du dispositif en Corse</i>	<i>179</i>
III.1.1. Recueil de données de terrain.....	180
III.1.1.1. Implication des acteurs de terrain dans la réalisation des prélèvements	180
III.1.1.2. Formation au prélèvement et à la détection de lésions	182
III.1.1.3. Collecte et acheminement des prélèvements vers les laboratoires d'analyses....	183
III.1.2. Analyses de laboratoire	184
III.1.3. Analyse des données et réseau scientifique.....	185
III.1.4. La communication et les interactions intra-réseau	186
III.1.4.1. Confiance et communication entre acteurs	186
III.1.4.2. Interactions intra-réseau.....	188
<i>III.2. Perspectives.....</i>	<i>189</i>
III.2.1. De la nécessité d'une coordination du dispositif.....	189
III.2.2. L'évaluation de quel risque zoonotique et comment ?.....	190
III.2.3. Comment maintenir ou poursuivre le suivi de maladies zoonotiques chez les sangliers en Corse ?.....	191
III.2.3.1. Propositions concernant les trois agents zoonotiques étudiés.....	191
III.2.3.1. Surveillance des maladies zoonotiques de la faune sauvage en Corse	192
CONCLUSION GENERALE.....	195
Annexe 1 : Publications et communications en lien avec la thèse	199
Annexe 2 : Réalisations de chasse aux sangliers en Corse-du-Sud lors de la campagne de chasse 2006-2007.....	200
Annexe 3 : Analyse statistique des résultats sérologiques de trichinellose obtenus par test ELISA. .	202
Annexe 4 : Molecular and biological characteristics of <i>Toxoplasma gondii</i> isolates from wildlife in France.....	205
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	213

Sigles et abréviations

2A : Corse-du-Sud / 2B : Haute-Corse	IFAT : indirect immunofluorescent antibody test
ACCA : Association Communale de Chasse Agréée	IFEN : Institut Français de l'Environnement
ADN : acide désoxyribonucléique	IGN : Institut Géographique National
AFNOR : Association Française de Normalisation	INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments	INSEE : Institut National de la Statistiques et des Etudes Economiques
ANR : Agence Nationale de la Recherche	INSERM : Institut National de la Santé et la Recherche Médicale
AOC : appellation d'origine contrôlée	INVS : Institut National de Veille Sanitaire
ARN : acide ribonucléique	LBBE : Laboratoire de Biologie et Ecologie évolutive des populations
BIPAR : Biologie moléculaire et immunologie parasitaires et fongiques	LDAV : Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires
CEE : Communauté Economique Européenne	LERRPAS : Laboratoire de Recherche sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages (AFSSA)
CHU : Centre Hospitalier Universitaire	LNR : Laboratoire National de Référence
CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement	LRDE : Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Elevage
CMR : capture-marquage-recapture	MAT : modified agglutination test
CNR : Centre National de Référence	MIRU-VNTR : mycobacterial interspersed repetitive unit - variable number of tandem repeat
CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique	MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle
DDAF : Direction Départementale de l'Agriculture et des Forêts	OIE : Office International des Epizooties/
DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales	OMS : Organisation Mondiale de la Santé/ WHO : World Health Organisation
DDSV : Direction Départementale des Services Vétérinaires	ONCFS : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage
DEGB : Département d'Ecologie et de Gestion de la Biodiversité	PCR : polymerase chain reaction
DGAI : Direction Générale de l'Alimentation	PEI : plan exceptionnel d'investissement
DO : densité optique	PNRC : Parc Naturel Régional de Corse
EFSA : European Food Safety Authority, autorité européenne de sécurité des aliments	SFDT : Sabin-Feldman dye test
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay	SIDA : syndrome de l'immunodéficience acquise
ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort	UMR : unité mixte de recherche
FDC : Fédération Départementale des Chasseurs	USC : unité sous contrat
FNC : Fédération Nationale des Chasseurs	USF : Unité Sanitaire de la Faune (ONCFS)
FRGDS : Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire	UZB : Unité de Zoonoses Bactériennes (AFSSA)
GDS : Groupement de Défense Sanitaire	VIH : virus de l'immunodéficience humaine
GTV : Groupement technique vétérinaire	VNTR : variable number tandem repeats
HEV : virus de l'hépatite E	
IC : intervalle de confiance	

Liste des tables et figures

Tables

Table 1 : Liste non exhaustive des dangers zoonotiques liés au grand gibier chassé en France et modalités de transmission à l'Homme. _____	28
Table 2 : Agents potentiellement zoonotiques décrits chez le sanglier, symptômes chez les suidés et présence chez le sanglier, voie de transmission et symptômes chez l'Homme. _____	39
Table 3 : Espèces et génotype genre <i>Trichinella</i> : répartition géographique, climat, hôtes, infestation décrite chez l'Homme et résistance à la congélation _____	43
Table 4 : Résultats de précédentes études concernant la recherche directe ou sérologique de <i>Trichinella</i> chez le Sanglier en Europe. _____	47
Table 5 : Foyers autochtones de trichinellose due à la consommation de viande de sanglier en France depuis 1975 _____	50
Table 6 : Résultats de précédentes études concernant la recherche sérologique de <i>Toxoplasma gondii</i> chez le sanglier en Europe. _____	54
Table 7 : Tuberculose à <i>M. bovis</i> chez les suidés sauvages. _____	60
Table 8 : Acteurs mobilisés en Corse dans le cadre du réseau d'épidémiosurveillance active de zoonoses. ____	84
Table 9 : Concordance entre le test MAT sur sérum et le MAT sur fluide musculaire _____	135
<i>Chapitre P2.II.2</i>	
Table 1. Parasitological and serological results in wild boar and red fox in Corsica during 2006-2008 survey for <i>Trichinella</i> spp. _____	97
<i>Chapitre P2.III.2</i>	
Table 1. Age-adjusted serorevalence of <i>Toxoplasma gondii</i> antibodies and agglutination titers obtained by MAT in wild boars from Champagne-Ardenne and Corsica, France _____	114
Table 2. Genotyping of <i>Toxoplasma gondii</i> isolated in wild boars in France _____	115
<i>Chapitre P2.III.3</i>	
Table 1. Concordance between MAT using commercial antigen (Ag) Toxoscreen® and MAT using antigen from the French Biological Resource Centre for Toxoplasmosis (BRC) _____	125
Table 2. Sample size and seroprevalence for <i>Toxoplasma gondii</i> in wild boars collected during year 1 (2006-2007) and year 2 (2007-2008) in Corsica (n= 1399). _____	125
Table 3. Coefficients of the multivariable logistic regression models selected to explain <i>T. gondii</i> seropositivity in adult wild boar from Corsica _____	126
<i>Chapitre P2.IV.2</i>	
Table 1. Strains of <i>M. bovis</i> isolated from livestock in Corsica, France _____	146
Table 2. Strains of <i>M. bovis</i> isolated from wild boar in Corsica, France _____	146
<i>Annexe 3</i>	
Table 1. Description of the links indicated in Figure 1 _____	203
Table 2. Descriptive statistics of empirical posterior distributions of parameters of the Gaussian mixture model _____	203
<i>Annexe 4</i>	
Table 1. <i>T. gondii</i> isolates from wildlife animals in France. _____	207

Figures

Figure 1: Distribution actuelle du sanglier et frontière approximative des différentes sous-espèces _____	30
Figure 2 : Tableaux de chasse départementaux pour la campagne 2005-2006 _____	31
Figure 3 : Évolution du tableau de chasse national du sanglier sauvage entre 1973 et 2005 _____	31
Figure 4 : Cycle évolutif de <i>Trichinella spiralis</i> chez un hôte _____	45
Figure 5 : Cycle épidémiologique de <i>Trichinella</i> _____	46
Figure 6 : Cycle parasitaire de <i>Toxoplasma gondii</i> _____	53
Figure 7 : La Corse, une île en Méditerranée _____	66
Figure 8 : Proximité phylogénétique au sein des suiformes _____	68
Figure 9 : Elevage et abattage officiel de porcs en Corse en 2007 _____	73
Figure 10 : Schéma d'organisation et de fonctionnement du réseau d'épidémiosurveillance active de la trichinellose mis en place en Corse de 2006 à 2008 _____	85
Figure 11 : Résultats de l'enquête épidémiologique faune sauvage menée en 2004-2005 après la découverte d'un foyer porcin de trichinellose à Guitera-les-Bains _____	90
Figure 12 : Résultats de l'enquête sérologique trichinellose chez le sanglier menée en 2003-2004 _____	91
Figure 13 : Localisation des souches de <i>T. gondii</i> de type II isolées en Corse _____	133
<i>Chapitre P2.II.2</i>	
Figure 1. Survey for <i>Trichinella spp.</i> in Corsica during 2006-2008 _____	96
<i>Chapitre P2.III.3</i>	
Figure 1. Spatial distribution of toxoplasmosis in wild boar collected in Corsica from 2006 to 2008 _____	124
Figure 2. Relationship between altitude and average temperature or precipitation for the summers 2006 and 2007 in 20 meteorological stations from Corsica _____	125
Figure 3. Relationship between altitude and number of farms with pigs, cattle, sheep and goat in Corsica _____	127
<i>Chapitre P2.IV.2</i>	
Figure 1. Location of outbreaks of bovine tuberculosis in cattle and pigs and cases in wild boar _____	145
<i>Chapitre P2.II.2</i>	
Figure 1. Directed acyclic graph of the model. _____	203
Figure 2. Serological and goodness-of-fit graphs _____	203
Figure 3. The ROC curve with parameters of the Gaussian mixture model fixed to the medians of the empirical posterior distributions _____	204
Figure 4. Cartography of the serological results per county of the survey for <i>Trichinella spp.</i> in Corsica during 2006-2008 in wild boars and collection of foxes _____	204

AVANT-PROPOS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été en partie financés par l'Agence Nationale de la Recherche (programme BioScope ANR 05 SEST 048-02) et la Collectivité Territoriale de Corse.

La thèse s'est déroulée en deux temps :

- De juillet 2006 à mai 2008 en Corse. Pendant cette période j'étais basée au Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Elevage de l'INRA (département Science pour l'Action et le Développement), à Corté (Haute-Corse). Grâce à l'appui scientifique et technique, la connaissance du milieu local et au confort logistique de ce laboratoire, j'ai pu mettre en place et coordonner un dispositif d'épidémiosurveillance de maladies dans la faune sauvage sur l'île et organiser la collecte de données.

- De mai 2008 à mai 2009 à Clermont-Ferrand et Lyon. Cette seconde phase a été consacrée à l'analyse des données et leur valorisation, que j'ai pu réaliser grâce à l'encadrement scientifique et le support technique de l'Unité d'Epidémiologie Animale de l'INRA (département Santé Animale), à Theix (Clermont-Ferrand), et du Laboratoire de Biologie et Ecologie Evolutive du CNRS - Université Claude Bernard, à Lyon.

Actuellement, mon travail de thèse a donné lieu à deux articles acceptés dans des revues scientifiques de rang A, deux autres articles scientifiques étant soumis ou en préparation. Par ailleurs, j'ai réalisé trois communications - orales ou affichée - dans des congrès internationaux, une communication orale aux Journées de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé de l'Université de Clermont-Ferrand, et un article de vulgarisation (cf. publications et communications en annexe 1, p.188). Une partie des travaux présentés dans ce manuscrit a de plus été présentée lors de réunions d'informations pour les acteurs locaux en Corse, en septembre 2006, juillet 2007 et septembre 2008.

INTRODUCTION

Les maladies de la faune sauvage jouent un rôle écologique par leurs impacts sur les dynamiques de populations sauvages, mettant parfois en péril la conservation de certaines espèces (Van Riper III *et al.*, 1986; Thorne and Williams, 1998; Daszak and Cunningham, 1999). Elles peuvent aussi représenter des menaces importantes pour la santé publique (Daszak *et al.*, 2000). Actuellement, plus des deux tiers des maladies infectieuses connues chez l'Homme sont considérés comme étant d'origine animale, et de nombreux auteurs s'accordent à penser que ces zoonoses représentent la plus importante menace de maladies émergentes futures (Jones *et al.*, 2008). C'est pourquoi la directive de l'Union Européenne 92/45/CEE recommande un système de rapport de la santé des espèces sauvages à l'échelle nationale. Cependant, ces systèmes restent rares, et la plupart des efforts de contrôle des maladies de la faune sauvage sont développés pour la gestion des états de crise (Artois *et al.*, 2001; Mathews and Joanne, 2009). Aussi, en 2005, le groupe de travail des maladies de la faune sauvage de l'OIE¹ insistait de nouveau sur la nécessité de mettre en place des stratégies nationales de détection des maladies de la faune sauvage transmissibles à l'Homme, et aux animaux d'élevage, en prenant notamment pour exemple le système développé au Canada² (Kuiken *et al.*, 2005).

La chasse est une activité qui met en contact les animaux gibiers et l'Homme. A ce titre elle intéresse particulièrement la détection et le suivi de maladies zoonotiques. Depuis plusieurs dizaines d'années, les tableaux de chasse augmentent (Saint-Andrieux and Barboiron, 2009) et par là même la consommation de viande de gibier. Parallèlement, les modes de préparation de cette viande semblent se modifier, les grillades étant préférées aux longues marinades. De plus, les états d'immunodépression (VIH, greffe, chimiothérapie) de certains individus aggravent l'expression clinique de maladies par ailleurs bénignes (Mele *et al.*, 2002; Thoen *et al.*, 2006). Pour toutes ces raisons, l'exposition aux agents pathogènes du gibier et le risque de maladie chez l'homme augmentent.

Parmi les espèces chassées, le Sanglier (*Sus scrofa*) constitue un modèle d'étude intéressant à plusieurs titres, comme nous le présenterons dans la première partie de cette thèse. De manière synthétique, il est sensible à de nombreux agents pathogènes d'importance en santé publique, les effectifs en France sont en très forte augmentation depuis 25 ans, au vu

¹ Office International des Epizooties, désormais Organisation Mondiale de la Santé Animale/ World Organisation for Animal Health: http://www.oie.int/wildlife/eng/en_wildlife.htm

² Environment Canada, "Canada's National Wildlife Disease Strategy" 31 May 2004, www.cwsscfc.gc.ca/cnwds/index_e.cfm

de la progression des prélèvements cynégétiques (Hars, 2000), et toutes les régions françaises un minimum boisées ont été colonisées.

Parmi ces régions, la Corse est une région où la chasse aux sangliers est traditionnellement ancrée (PNRC, 1995). C'est pourquoi elle constitue une aire où le risque zoonotique lié à cette espèce gibier doit être étudié.

L'objectif du travail, personnel et collectif, présenté dans cette thèse a été d'apporter, à partir de l'étude de plusieurs exemples d'infections zoonotiques, des éléments de réponse à la question du risque de transmission d'agents pathogènes du Sanglier à l'Homme en Corse, et des axes de réflexion pour une meilleure prise en compte et gestion de ce risque par les gestionnaires de la santé animale et de la faune sauvage sur l'île.

La première partie³ de notre thèse présentera, en nous appuyant sur la littérature propre aux sujets, la démarche – l'analyse du risque zoonotique –, les objets – le sanglier en tant qu'espèce gibier et ses infections –, et le contexte d'étude – la Corse –, en définissant, de manière préliminaire, les notions de zoonoses, de gibier et de risque zoonotique et en exposant, finalement, les questions épidémiologiques à traiter.

Dans la seconde partie de l'ouvrage, nous décrirons tout d'abord en détail l'organisation du système qui nous a permis le recueil et l'analyse de données, c'est-à-dire un dispositif insulaire d'épidémiosurveillance active dont nous étions coordinatrice. Ensuite, nous présenterons l'étude épidémiologique de trois agents zoonotiques d'intérêt majeur en santé humaine : *Trichinella britovi*, responsable d'une trichinellose, *Toxoplasma gondii*, agent de la toxoplasmose, et *Mycobacterium bovis*, bacille de la tuberculose dite bovine, transmissible à l'Homme.

Enfin, la troisième partie du manuscrit consiste en une discussion générale de notre travail ; elle comprend une réflexion sur les avancées et lacunes de nos travaux concernant l'évaluation du risque zoonotique lié aux sangliers en Corse, les propositions de gestion et de prévention de ce risque, ainsi que les limites et perspectives du dispositif d'épidémiosurveillance mis en place.

³ Dans la suite de cette thèse, le renvoi à des chapitres de la première, seconde ou troisième partie fera précéder l'abréviation P1, P2 ou P3 au numéro du chapitre correspondant pour indiquer la partie du manuscrit concernée par le renvoi.

**PREMIERE PARTIE : LE SANGLIER, UN GIBIER SAUVAGE
SOURCE D'AGENTS ZONOTIQUES**

I. Gibier sauvage et risque zoonotique

I. 1. Importance des zoonoses et rôle de la faune sauvage

Le terme de zoonose a été forgé en 1855 par un biologiste allemand étudiant les trichinelles, Rudolf Virchow, convaincu de l'importance de lier médecine humaine et vétérinaire pour mieux comprendre les maladies (Brown, 2004).

Ensuite, une première définition historique des zoonoses a été formulée par l'OMS (Organisation mondiale de la santé) en 1951⁴, puis reprise par l'Union Européenne dans sa première directive concernant les zoonoses en 1992⁵. Actuellement une zoonose, ou maladie zoonotique, est communément définie comme « une maladie et/ou infection naturellement transmissible directement ou indirectement entre les animaux Vertébrés et l'Homme » (Palmer *et al.*, 1998). Tout virus, bactérie, parasite, agent fongique ou autre entité biologique susceptible d'entraîner une maladie zoonotique est alors appelé agent zoonotique.

Ainsi, la définition même des zoonoses nous indique que leur étude doit considérer à la fois l'Homme et l'Animal.

Notons que la définition actuelle des zoonoses exclut les maladies communes aux animaux et à l'homme dues à des agents pathogènes issus d'un réservoir tellurique (listériose, tétanos, mélioïdose, aspergillose, *etc.*) (Savey and Dufour, 2004).

- Importance des zoonoses

Parmi les 1415 espèces d'organismes connus pour être pathogènes chez l'Homme (virus et prions, bactéries et rickettsies, champignons, protozoaires et helminthes), 61% ont été identifiés comme des agents zoonotiques (Taylor *et al.*, 2001). En 2001, Daszak *et al.* mettaient en évidence que 75% des maladies émergentes chez l'Homme étaient zoonotiques (Daszak *et al.*, 2001). En 2008, Jones *et al.* précisaient ces données en montrant que les émergences de maladies infectieuses étaient dominées par les zoonoses (60,3%).

La notion de zoonose apparaît donc centrale pour comprendre et maîtriser les maladies émergentes.

A l'échelle internationale, l'OIE⁶ liste les maladies animales transmissibles à déclaration obligatoire par les pays membres car pouvant affecter le commerce international des animaux et des produits d'origine animale, de manière importante ou non négligeable, et

⁴ WHO, 1951. Expert Committee on Zoonoses, WHO tech. Rep. N°40

⁵ Directive européenne 92/117/EC du Conseil, du 17 décembre 1992, concernant les mesures de protection contre certaines zoonoses et certains agents zoonotiques chez les animaux et dans les produits d'origine animale, en vue de prévenir les foyers d'infection et d'intoxication dus à des denrées alimentaires. Abrogée par la Directive européenne 2003/99 EC

⁶ Organisation Internationale des Epizooties/ World Organization for Animal Health, <http://www.oie.int> *Terrestrial Animal Health Code*, OIE, Paris, ed. 13, 2004.

dont les conséquences socio-économiques ou sanitaires peuvent être graves. Un quart des maladies inscrite dans cette liste incluent des zoonoses, dont certaines sont majeures (rage, brucellose, tuberculose) ou peuvent être cliniquement graves (trichinellose, échinococcose).

A l'échelle européenne, en 2006, année du début de notre étude, l'EFSA⁷ reportait 2349 cas humains cumulés de trichinellose, toxoplasmose et échinococcose, 1337 cas de brucellose, et 86 cas de tuberculose à *M. bovis* (Hugas *et al.*, In Press). De plus, dans les pays dits industrialisés, les zoonoses d'origine alimentaire (infections transmises de l'animal à l'Homme par contact alimentaire ; *foodborne zoonoses*, en anglais), toucheraient annuellement 10% de la population (Käferstein and Abdussalam, 1999; Schlundt, 2002).

Ces estimations sont une indication de l'impact des zoonoses en santé publique. Cependant, elles ne concernent le plus souvent que les maladies à déclaration obligatoire (cas déclarés à l'EFSA) ou bien les formes cliniques les plus sérieuses, ayant nécessité consultation ou hospitalisation. Il est donc probable que l'incidence des maladies zoonotiques au sens large soit sous-estimée, expliquant que leur impact réel en santé publique, bien que visiblement majeur, soit difficilement chiffrable.

- Place de la faune sauvage dans les zoonoses

La constitution au sein de l'OIE, en 1994, d'un groupe de travail sur les maladies de la faune sauvage a permis la création d'une liste de maladies intéressant particulièrement la faune sauvage. Bien qu'indicative, non officielle et non contraignante, cette liste a été ajoutée dans le but de faciliter aux états membres le rapport annuel de la situation épidémiologique de ces maladies (Coroller, 2002), et souligne l'importance de s'intéresser au cycle sauvage des agents pathogènes dans la circulation des maladies, y compris zoonotiques.

Jones *et al.* (2008) mettent ainsi en évidence que dans la majorité des zoonoses émergentes (71,8%), la source d'agent zoonotique pour l'Homme est l'animal sauvage. Comme nous pourrons le voir par exemple pour le sanglier (cf. P1-II.3, p.38), en fonction des agents zoonotiques considérés et des circonstances écologiques, son rôle épidémiologique dans le cycle du pathogène peut être celui d'hôte réservoir, secondaire, vecteur ou encore d'impasse (cul-de-sac) épidémiologique. Un hôte est défini comme un être vivant qui héberge dans des conditions naturelles un agent pathogène (Haydon *et al.*, 2002; Ashford, 2003). L'hôte réservoir, quelquefois désigné sous le nom d'hôte primaire, sensible et réceptif à

⁷ European Food Safety Authority/ Autorité européenne de sécurité des aliments, <http://www.efsa.europa.eu>

l'agent pathogène, concourent à la survie de l'agent zoonotique dans la nature. L'hôte secondaire, ou hôte incident ou accidentel, est infecté (infesté) à partir du réservoir, mais n'est pas nécessaire au maintien de la population d'agents zoonotiques. Enfin l'hôte vecteur, ou messenger, ou encore de liaison, transmet l'agent d'un réservoir à un hôte incident. Notons que la notion d'impasse épidémiologique implique que l'hôte ne joue pas de rôle dans le maintien du cycle de l'agent pathogène mais qu'il peut en être le traceur, le révélateur dans l'environnement.

En fonction du rôle épidémiologique joué par l'espèce sauvage source du danger zoonotique, les mesures de gestion du risque zoonotique seront à adapter.

I.2. Risque zoonotique et analyse de risque

Un risque biologique au sens large est défini comme un danger auquel l'Homme est exposé. Le danger lui-même est un agent biologique potentiellement dangereux pour la santé humaine (champignons et levures, algues, helminthes, protozoaires, bactéries, virus, prions, fragments de matériel animal et végétal). En épidémiologie, le risque, ici zoonotique, est défini comme une probabilité qu'une maladie zoonotique survienne à un moment donné ou pendant une période donnée (Toma *et al.*, 2001).

Afin d'évaluer puis de maîtriser ce risque, une méthodologie pluridisciplinaire, appelée analyse de risque, a été développée. Le modèle classiquement décrit de cette méthodologie se décompose en trois volets (WHO, 2003):

(1) l'estimation ou évaluation quantitative du risque qui vise à évaluer le risque en terme de grandeurs chiffrées (voir ci-après).

(2) la gestion du risque qui comprend l'évaluation, la sélection et la mise en place de mesures de police sanitaire.

(3) la communication du risque par l'échange d'information entre les acteurs impliqués.

De manière standard, l'estimation du risque consiste en l'évaluation scientifique des effets sur la santé humaine et est constituée de 4 étapes⁸:

- l'**identification du danger**, de la nature et des caractéristiques de l'agent,
- la **caractérisation de ce danger** pour l'Homme,
- l'**estimation de l'exposition** de l'Homme à l'agent,
- et la **caractérisation du risque** dans son ensemble, synthèse des 3 étapes précédentes.

⁸ Règlement Communauté Européenne 178/2002, article 3-11

Une fois le danger identifié, l'étape de caractérisation du danger doit notamment permettre de fournir une description des effets liés au contact avec l'agent zoonotique. Généralement, l'objectivation de la sévérité de la maladie en épidémiologie clinique humaine est approchée par le nombre de personnes malades (taux de morbidité ou d'hospitalisation) ou décédées (taux de létalité ou de mortalité) (Vaillant *et al.*, 2004). Ces approches ne prennent en revanche pas en compte les conséquences socio-économiques de la maladie, souvent difficiles à estimer mais qui peuvent pourtant être lourdes : coût direct des traitements des patients concernés par le foyer ou les foyers de la maladie, indemnités compensatoires versées en cas d'hospitalisation voire de décès, coût de gestion du foyer de la maladie par les services publics, baisse de productivité au travail des personnes atteintes ou bien encore répercussions commerciales dans la filière concernée (Todd, 1989; Rocourt, 1996).

L'étape de caractérisation du danger doit aussi permettre de fournir une estimation quantitative du pathogène dans l'aliment considéré au moment de sa consommation, ainsi que le niveau d'incertitude associé. Cette estimation peut relever d'études d'épidémiologie descriptive permettant d'estimer la prévalence de l'agent chez l'animal et/ou le produit concerné. Concernant la viande de gibier par exemple, la connaissance épidémiologique du statut sanitaire de l'espèce source du pathogène étudié dans la population considérée contribue donc à la caractérisation du danger.

L'étape d'estimation de l'exposition à l'agent relève notamment d'études d'épidémiologie humaine qui visent à décrire l'incidence de la maladie chez l'Homme. Dans cette étape, les modalités de transmission de l'agent zoonotique à l'Homme sont aussi à considérer. Dans le cas des zoonoses dues à la faune sauvage par ailleurs, cette transmission à l'Homme peut être favorisée par les activités humaines, y compris par la pratique d'activités de loisir de pleine nature telle que la chasse (Kruse *et al.*, 2004). Ce type de donnée doit être pris en compte pour pondérer l'estimation de l'exposition en fonction de la population considérée.

L'épidémiologie au sens large étudie les variations de fréquence des maladies et recherche les déterminants de ces variations en identifiant les facteurs de risque des maladies (Valleron *et al.*, 2006). Concernant les zoonoses, les études d'épidémiologie animale analytique, visant à comprendre les facteurs associés à la présence chez l'animal de l'agent zoonotique, sont donc utiles pour caractériser le risque et éclairer le gestionnaire du risque sur les variables à prendre en compte pour limiter l'exposition au risque.

L'analyse de risque nécessite d'étudier d'une part la transmission à l'Homme (modes de contamination, etc.), et d'autre part le cycle extra-humain des infections zoonotiques et des systèmes hôtes-parasites. Ce dernier point intéresse l'étude de la circulation du pathogène entre ses hôtes, des fréquences d'infection chez les différents hôtes et des facteurs permettant de mieux comprendre l'exposition des hôtes au pathogène. Notre travail de thèse porte en particulier sur ces deux derniers aspects.

I.3. Gibier sauvage et réglementation sanitaire

I.3.1. Définitions liées au gibier et conséquences

Parmi les espèces sauvages, captives ou non, la réglementation française distingue 3 grandes classes d'espèces en fonction du niveau de protection dont elles bénéficient:

- les espèces **protégées**⁹,
- **les espèces gibiers**¹⁰, regroupant toutes les espèces d'Oiseaux et de Mammifères sauvages (à l'exception des micromammifères), c'est-à-dire les espèces non domestiques et « admises par la tradition comme susceptibles d'actes de chasse et qui appartiennent au patrimoine biologique national ». Pour certaines de ces espèces de gibier, la chasse est autorisée.
- les **espèces susceptibles d'être classées nuisibles**¹¹. Lorsque ces espèces sont reconnues nuisibles à l'échelon départemental (liste établie par le préfet de département) elles peuvent être régulées ou détruites localement (Coroller, 2002).

Ainsi dans certains départements, le Sanglier, par exemple, peut être à la fois gibier et nuisible. Ce qui signifie qu'il peut faire l'objet d'une chasse traditionnelle (cf. P1-II.1, p.30) ainsi que de tirs de décantonement ou de destruction (battue administrative généralement).

La réglementation relative aux conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des viandes de gibier¹² distingue enfin le gibier d'élevage -espèces de gibiers élevés comme des animaux domestiques c'est-à-dire nés, élevés et abattus en captivité -, du gibier sauvage - espèces vivant en liberté et dont la chasse est autorisée-, en distinguant le grand gibier sauvage (mammifères sauvages de l'ordre des Ongulés), dont le sanglier (*Sus scrofa*),

⁹ Arrêté ministériel du 17/04/1981, fixant la liste des espèces protégées sur l'ensemble du territoire et leurs modalités de protection (JO 19/05/1981), modifié par l'arrêté du 03/05/2007 pour les Oiseaux et par l'arrêté du 23/04/2007

¹⁰ Arrêté ministériel du 26/06/1987, fixant la liste des espèces de gibier dont la chasse est autorisée (JO 20/09/1987) modifié par l'arrêté du 15/02/1995

¹¹ Arrêté ministériel du 30/09/1988, fixant la liste des espèces susceptibles d'être classées nuisibles (JO 22/12/1988)

¹² Directive n°91/495/CEE modifiée le 27/11/1990, concernant les problèmes sanitaires et de police sanitaire relatifs à la production et la mise sur le marché de viandes de lapin et de gibier d'élevage (JO 24/09/1991)

et le petit gibier sauvage (mammifères de la famille des Léporidés et oiseaux sauvages de chasse destinés à la consommation humaine).

Dans la suite de ce chapitre, nous nous focaliserons sur le risque zoonotique lié au gibier sauvage prélevé localement. Ce chapitre ne s'intéressera en effet pas au gibier sauvage d'importation. Bien que relativement moins consommée en Europe de l'ouest que sur d'autres continents (environ 900g par an/ habitant en Allemagne ou 600 à 1000g/an/habitant en Autriche et en Suisse) (Atanassova *et al.*, 2008), la production de viande de gibier sauvage est pourtant parfois localement insuffisante. Aussi, chaque année 7 000 tonnes de viande de gibier sont importées en Europe de l'Ouest, dont le tiers concerne de la viande de sanglier, provenant majoritairement de pays d'Europe de l'Est mais aussi d'Australie et des Etats-Unis (Bertolini *et al.*, 2005; Magras *et al.*, 2008). Ces échanges constituent une filière « viandes de gibier sauvage » organisée autour d'établissements agréés (entreprises de traitement-découpe et négoce) au contrôle sanitaire réglementé.

I.3.2. Réglementation des modalités de cession du gibier sauvage

En France, la quantité de gibiers sauvages prélevés localement est estimée d'après les tableaux annuels de chasse officielle, qui font état d'environ 40 000 cerfs, 500 000 chevreuils, 500 000 sangliers et 31 000 000 petits gibiers prélevés (source : ONCFS¹³). En revanche la proportion de viande de gibier mise sur le marché reste inconnue car l'autoconsommation est elle-même inconnue.

La réglementation distingue deux modalités de cession ou vente du gibier sauvage¹⁴ :

- la commercialisation en circuit long, qui doit faire l'objet d'un contrôle sanitaire obligatoire avec préparation du gibier dans un atelier de traitement disposant d'un agrément de Communauté Européenne, inspection sanitaire obligatoire, traçabilité et estampillage de la carcasse. Dans le cas de grandes chasses, en amont de ces ateliers agréés, les chasseurs mettent en place des centres de collecte dotés de chambre froide, facilitant la conservation des viandes avant leur acheminement vers l'atelier de traitement.

- les circuits courts, qui eux ne bénéficient d'aucun contrôle sanitaire. L'usage peut être domestique privé ou bien il peut y avoir cession directe à un consommateur final (cession d'un chasseur à un chasseur ou un non chasseur), ou bien encore à un détaillant de proximité de type bouchers ou restaurateurs sans passage par un atelier de traitement agréé. Dans ce dernier cas, la commercialisation sans inspection ni estampillage obligatoire par les services

¹³ Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, <http://www.oncfs.gouv.fr>

¹⁴ Arrêté ministériel du 2/08/1995, fixant les conditions sanitaires de collecte, de traitement et de mise sur le marché des viandes fraîches de gibier sauvage.

vétérinaires est en effet tolérée dans un rayon de 80 km par rapport au lieu de chasse et limitée à de petites quantités correspondant à la journée de chasse.

Dans le cas du sanglier, la recherche de trichinellose (analyse par digestion pepsique sur muscle pilier du diaphragme)¹⁵ est de plus obligatoire dans le circuit long et financée par la Direction Départementale des Services Vétérinaires concernée qui perçoit une redevance sanitaire auprès de l'atelier de traitement. Dans le cas d'une commercialisation dans le cadre d'un circuit court, l'analyse « trichine » est aussi une obligation légale. Enfin lors d'une cession directe de viande de gibier, elle n'est pas obligatoire. En revanche l'information liée à cette maladie l'est et le chasseur reste totalement responsable sur le plan civil. En effet, que la viande de gibier soit cédée à titre gratuit ou bien vendue, le chasseur reste toujours aux yeux de la loi entièrement responsable de la denrée qu'il cède et ne doit pas remettre au consommateur une denrée impropre à la consommation humaine. Aussi, dans ce contexte, la connaissance du risque zoonotique lié à la population de gibier qu'il chasse devrait intéresser le chasseur lui-même.

I.4. Risque zoonotique et gibier

I.4.1. Modalités de transmission

La transmission de zoonoses, ici liées au gibier, peut s'effectuer :

- par **voie directe**, c'est-à-dire par consommation de venaison contaminée ou bien lors de la manipulation des animaux et des carcasses. Dans certains cas la contamination peut s'effectuer à distance, par aérosol, parfois même sur de longues distances comme dans les cas de la fièvre Q (Roy and Milton, 2004).
- par **voie indirecte**¹⁶, c'est-à-dire par l'intermédiaire d'un vecteur arthropode, hématophage le plus généralement, ou bien du milieu extérieur ou de l'eau.

Une autre voie de **transmission** à considérer est celle impliquant les **animaux d'élevage**. Sans contact direct avec la faune sauvage, mais par le simple fait que des animaux domestiques soient contaminés à partir d'un réservoir sauvage, certaines maladies peuvent être transmises à l'Homme et avoir une importance en santé publique. Concernant la trichinellose par exemple, l'implication de la faune sauvage synanthropique (renard, rat) dans la contamination par *Trichinella spp.* d'élevages de porc (Rosenthal *et al.*, 2008) ou de cheval (Pozio *et al.*, 2001b) est très fortement suspectée d'avoir été à l'origine de plusieurs foyers de trichinellose en Europe, dont en France, dans le dernier quart du 20^{ème} siècle (Boireau *et al.*,

¹⁵ Règlement CE n°2075/2005, concernant les modalités du contrôle des trichines dans les viandes d'animaux.

¹⁶ Compte tenu de la définition d'une zoonose explicitée ci-avant, nous excluons délibérément de ce chapitre les maladies communes aux hommes et aux animaux dues à des agents pathogènes issus d'un réservoir tellurique.

2000). Dans une perspective de gestion des maladies zoonotiques, l'interaction faune domestique-faune sauvage est donc aussi importante à considérer.

Compte tenu du trop grand nombre de pathogènes impliqués et de la problématique de cet ouvrage ciblée sur le sanglier, nous ne détaillerons pas dans ce chapitre les caractéristiques biologiques et pathogéniques de tous les agents transmissibles à l'Homme à partir du gibier au sens large. Cependant quelques revues de littérature ou articles spécifiques sur le sujet nous permettent de faire un tour d'horizon des pathogènes identifiés chez le gibier comme potentiellement zoonotiques et du risque lié à ces dangers.

I.4.2. Zoonoses liées aux oiseaux

L'avifaune chassée concerne en France 59 espèces d'oiseaux, dont 10 sédentaires et le reste migratrices (22,1% des espèces d'Oiseaux, hors espèces occasionnelles) (source : DEGB/MNHN¹⁷).

Tsiodras *et al.* (2008) montrent que les oiseaux sauvages, peuvent être réservoirs et/ou vecteurs potentiels de 58 pathogènes potentiellement transmissibles à l'Homme mais que la transmission effective de l'oiseau à l'Homme n'a été confirmée, grâce à des études de typage moléculaire, que pour 10 agents pathogènes: *Chlamydomydia psittaci*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica typhimurium*, *Mycobacterium avium ulcerans*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Cryptococcus spp.*, virus du West Nile, virus de l'encéphalite de St. Louis, le virus de l'Encéphalite Equine de l'Ouest, virus de l'Influenza A.

Globalement le rôle des oiseaux dans la transmission directe de maladies infectieuses est considéré comme faible à l'exception du risque lié au virus *Influenza* de type A (Tsiodras *et al.*, 2008). Concernant ce virus en effet, un cas mortel de H5N1 a été rapporté en Azerbaïdjan, une personne étant décédée après contact avec un Cygne tuberculé infecté¹⁸. Par ailleurs, la mise en évidence d'une sérologie positive vis-à-vis de virus *Influenza* de type A a été rapportée chez des chasseurs et des professionnels de la faune sauvage aux Etats-Unis (Gill *et al.*, 2006).

I.4.3. Zoonoses liées aux lagomorphes

Le petit gibier autre que les oiseaux concerne en France essentiellement les lagomorphes, c'est-à-dire le lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*), le lièvre brun ou de plaine (*Lepus europaeus*) et le lièvre variable (*L. timidus*).

¹⁷ Département d'écologie et de gestion de la biodiversité/ Muséum National d'Histoire Naturelle

¹⁸ Avian influenza - situation in Azerbaïdjan. Available from: http://www.who.int/csr/don/2006_04_11/en/index.html

La zoonose intéressant particulièrement les lagomorphes est la tularémie. Cette infection due à la bactérie (*Francisella tularensis*) concerne toutefois surtout le lièvre, le lapin étant réputé moins sensible à la bactérie (Vaissaire *et al.*, 2005). La maladie est connue pour sévir davantage l'hiver du fait d'une meilleure survie de la bactérie dans les cadavres d'animaux à une température négative. Généralement sporadique, l'infection se caractérise chez l'Homme par des formes très variées (ulcéro-ganglionnaire, oculo-ganglionnaire, oropharyngée, pulmonaire, typhoïde et même atypique), la forme ulcéro-ganglionnaire étant cependant la plus fréquente. La bactérie *Francisella tularensis* peut être transmise du gibier à l'Homme par inoculation ou simple dépôt sur une peau même saine, lors de la simple manipulation de carcasse, ou bien via un arthropode. Elle peut aussi être transmise par consommation de viande insuffisamment cuite. En 2005 en France, Vaissaire *et al.* faisaient état d'un peu plus d'une trentaine de cas incidents en 2 ans.

L'infection à *Brucella suis* biovar 2 est également connue chez le lièvre brun, même si le niveau d'infection et le rôle de cette espèce dans l'épidémiologie de la maladie restent à préciser (Hars *et al.*, 2004b). La brucellose à *B. suis* biovar 2 est peu transmissible à l'Homme et demeure rare. Toutefois notons que deux cas humains ont été constatés en France depuis 1993 chez des chasseurs atteints de maladies intercurrentes (diabète, silicose, lupus) et massivement exposés lors de fréquentes éviscérations de dépouilles de lièvres et/ou de sangliers (Garin-Bastuji *et al.*, 2006).

Enfin, lapin et lièvre peuvent aussi être source du trématode *Fasciola hepatica*, l'agent de la distomatose hépato-biliaire (Médard *et al.*, 2000), et de *Mycobacterium bovis*, agent de la tuberculose « bovine » (Coleman and Cooke, 2001).

Compte tenu de l'importance de la chasse aux lagomorphes en France, et le fait qu'ils peuvent être source de deux maladies chez l'Homme parfois cliniquement graves (tularémie, brucellose notamment), le risque zoonotique lié à ce petit gibier semble important à considérer.

I.4.3. Zoonoses liées au grand gibier

Le **grand gibier sauvage prédominant en France** métropolitaine est le cerf (*Cervus elaphus*), le chevreuil (*Capreolus capreolus*) et le sanglier (*Sus Scrofa*). Le tableau 1.1 résume les dangers zoonotiques potentiels liés à ces espèces et leur(s) modalité(s) de transmission à l'Homme.

Table 1 : Liste non exhaustive des dangers zoonotiques liés au grand gibier chassé en France (Cerf, Chevreuil, Sanglier) et modalités de transmission à l'Homme, d'après les données de Dhondt (2005) et Böhm *et al.* (2007). Les zoonoses soulignées sont celles dont la présence chez le Sanglier a été explicitement mentionnée.

	Modalités de transmission			
	Manipulation	Consommation de viande*	Via des vecteurs	Via le milieu extérieur
Zoonoses virales				
Encéphalite à tiques	—	—	x	—
Louping ill	—	—	x	—
Parapoxvirus	x	—	—	—
<u>Rage</u>	x	—	—	—
<u>Rotavirose</u>	x	x	—	x
Zoonoses bactériennes				
<u>Borréliose de Lyme</u>	—	—	x	—
<u>Brucellose</u>	x	x	—	—
<u>Chlamydie</u>	x	—	—	—
Ehrlichiose granulocytaire	—	—	x	—
<u>Erysipéloïde</u>	x	x	—	—
<u>Fièvre charbonneuse</u>	x	x	x	x
<u>Fièvre Q</u>	x	—	x	—
Infection par E. coli O157	—	x	—	—
<u>Leptospirose</u>	x	—	—	x
Pasteurelloses	x	—	—	—
<u>Salmonellose</u>	x	x	—	—
<u>Streptococcie</u>	x	—	—	—
<u>Tuberculose à M. bovis</u>	x	x	—	—
<u>Tularémie</u>	x	x	x	—
<u>Yersiniose</u>	x	x	—	—
Zoonoses parasitaires				
<u>Ascaridose</u>	x	—	—	x
Babésiose	—	—	x	—
<u>Hydatidose</u>	x	—	—	x
Cestodoses imaginaires	—	x	—	—
Cryptosporidiose	—	x	—	x
<u>Distomatose</u>	—	—	—	x
<u>Ectoparasitoses</u> (gale, teigne)	x	—	—	—
Giardiose	x	—	—	x
Linguatuloses	x	x	—	x
Neosporose	x	x	—	—
<u>Sarcocystose</u>	x	x	—	x
<u>Toxoplasmose</u>	x	x	—	x
<u>Trichinellose</u>	—	x	—	—

* Contrairement à Böhm *et al.* (2007), Dhondt (2005) n'indique pas la transmission par ingestion pour la brucellose, à *Brucella spp.*, l'érysipéloïde, à *E. rhusiopathiae*, et la cryptosporidiose, à *Cryptosporidium spp.*

Nous identifions ainsi au minimum 33 zoonoses potentiellement liées aux cervidés et sangliers : 6 virus, 14 bactéries et 13 parasites. Les deux tiers de ces dangers zoonotiques sont transmissibles à l'Homme lors de la manipulation d'animaux morts. En France, par exemple des cas humains de tularémie liés à la manipulation de sangliers et chevreuils sont

effectivement régulièrement décrits (Lecostumier, 1994). Par ailleurs, près de la moitié de ces zoonoses peuvent être transmises par consommation de venaison. Concernant les cervidés, des cas humains liés à l'ingestion de viande contaminée ont effectivement été rapportés concernant la yersiniose, la salmonellose, l'infection à *E. coli* O157, la brucellose, l'érysipéloïde, la toxoplasmose et la cryptosporidiose (Böhm *et al.*, 2007).

Compte tenu du grand nombre des cervidés et sangliers chassés en France, il semble important de porter attention au rôle possible dans l'exposition au risque zoonotique de ces deux modes de transmission directe (manipulation et ingestion), particulièrement liés aux activités de chasse.

Enfin, nous remarquons que 21 des dangers zoonotiques décrits chez le grand gibier sauvage sont potentiellement présents chez le sanglier (Dhondt, 2005) (zoonoses soulignées dans la table 1). Dans une perspective d'analyse du risque zoonotique lié au gibier, l'étude du sanglier et de son statut sanitaire apparaît donc particulièrement intéressante.

Après ce tour d'horizon des zoonoses liées au gibier, il apparaît que le sanglier est un modèle biologique intéressant dans l'étude du gibier comme source d'agents pathogènes pour l'Homme, de par le nombre de dangers zoonotiques identifiés chez cette espèce et les modalités de transmission à l'Homme, essentiellement directe, des zoonoses concernées.

Dans le chapitre ci-après nous détaillerons les caractéristiques biologiques et écologiques de ce modèle d'étude, le sanglier, en rapport avec son rôle possible dans la transmission de pathogènes à l'Homme, et reviendrons sur les zoonoses qui le concernent, en développant tout particulièrement celles étudiées dans la seconde partie de l'ouvrage à savoir la trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose.

II. Le sanglier, un modèle biologique pour l'étude des zoonoses

II.1. Répartition et place du sanglier dans les activités de chasse

- Répartition

Artiodactyle de l'ordre des Suiformes et de la famille des Suidés, le Sanglier d'Eurasie, *Sus scrofa*, regroupe plusieurs sous-espèces géographiques de sangliers sauvages (Oliver, 1995). Leurs aires de répartition actuelle, naturelle ou non, est très vaste (Fig. 1). L'aire de répartition du Sanglier d'Europe (*Sus scrofa scrofa*) s'étend du centre de la péninsule ibérique jusqu'au nord de l'Europe, et de l'ouest de l'Europe jusqu'aux limites septentrionales de la Pologne, de la République tchèque, de la Slovaquie, de la Hongrie et de la Roumanie.

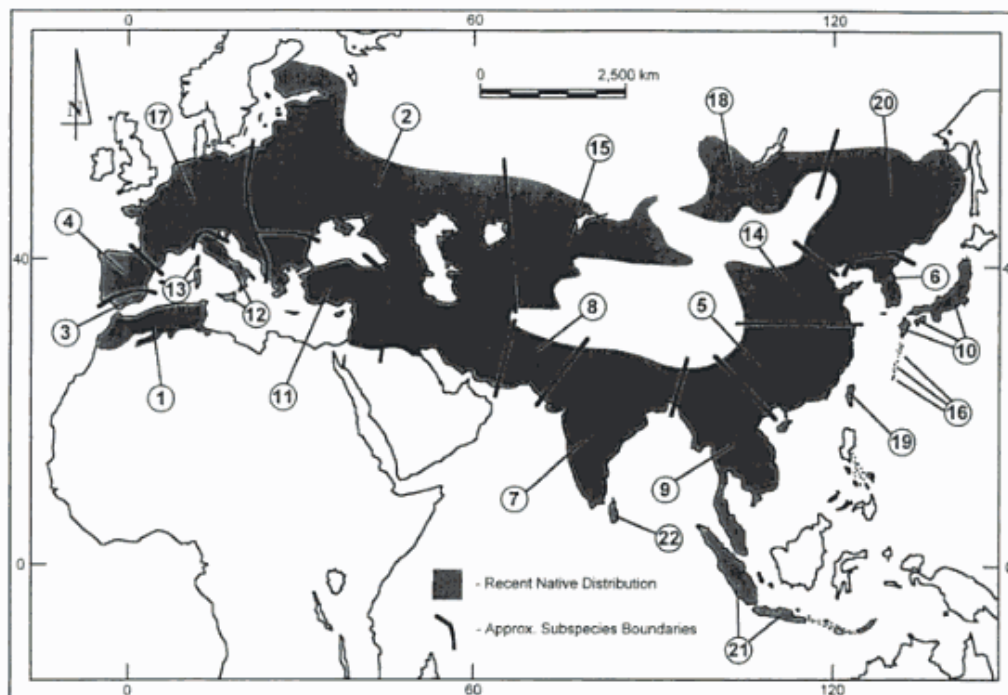


Fig. 1. Present-day distribution (shaded area) of Eurasian wild boar (*Sus scrofa* spp.) with approximate subspecies boundaries. The subspecies are as follows: (1) *S. s. algira*; (2) *S. s. attila*; (3) *S. s. baeticus*; (4) *S. s. castilianus*; (5) *S. s. chirodontus*; (6) *S. s. coreanus*; (7) *S. s. cristatus*; (8) *S. s. davidi*; (9) *S. s. jubatus*; (10) *S. s. leucomystax*; (11) *S. s. lybicus*; (12) *S. s. majori*; (13) *S. s. meridionalis*; (14) *S. s. moupinensis*; (15) *S. s. nigripes*; (16) *S. s. riukiuanus*; (17) *S. s. scrofa*; (18) *S. s. sibiricus*; (19) *S. s. taivanus*; (20) *S. s. ussuricus*; (21) *S. s. vittatus*; and (22) *S. s. zeylonensis*. Data modified from Mayer and Brisbin 1991 and Oliver, Brisbin, and Takahashi 1993.

Figure 1: Distribution actuelle du sanglier (*Sus scrofa* spp.) et frontière approximative des différentes sous-espèces, d'après Oliver (1995).

En **France**, le sanglier est réparti sur tout le territoire, à l'exception des départements des Hauts-de-Seine et de Seine-Saint-Denis (Pfaff & Saint-Andrieux, 2008) et des territoires de haute montagne au-delà de la limite des alpages (Baubet, 1998).

- Tableaux de chasse

L'analyse spatiale des tableaux de chasse montre que le sanglier est chassé sur la quasi-totalité du territoire français, avec toutefois des disparités régionales, les effectifs chassés étant plus faibles dans l'Ouest et l'extrême Nord et plus forts dans le Nord-Est, le Midi et en Corse (Fig. 2). L'analyse temporelle de ces mêmes tableaux de chasse montre par ailleurs que, depuis 30 ans, ces effectifs chassés sont en constante et forte augmentation : le nombre de sangliers prélevés à la chasse a été multiplié par 9 en 25 ans (Hars *et al.*, 2000) (Figure 3), avec près de 500 000 actuellement chassés par an sur tout le territoire français (Saint-Andrieux and Barboiron, 2009).

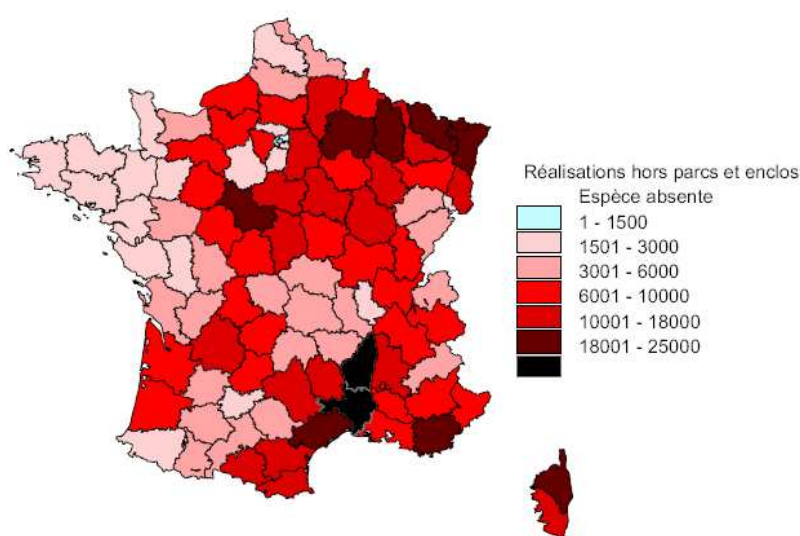


Figure 2 : tableaux de chasse départementaux pour la campagne 2005-2006 (données issues du Réseau Ongulés sauvages ONCFS/FNC/FDC), d'après Pfaff & Saint-Andrieux (2008).

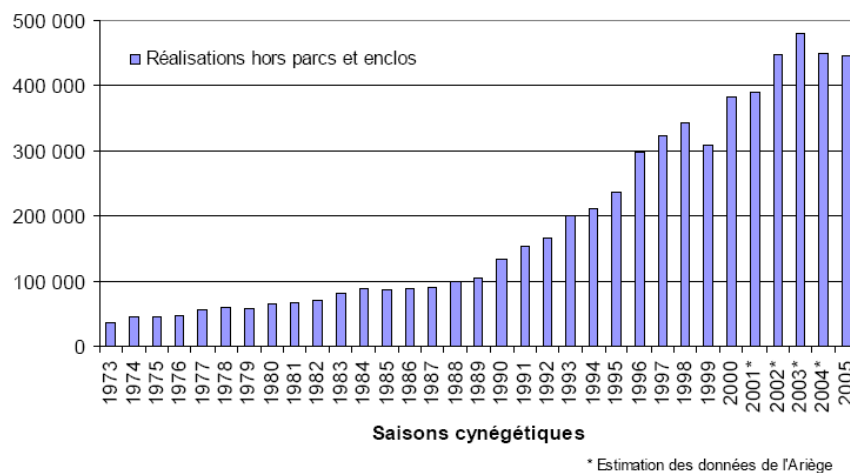


Figure 3 : Évolution du tableau de chasse national du sanglier sauvage entre 1973 et 2005 (données issues du Réseau Ongulés sauvages ONCFS/FNC/FDC), d'après Pfaff & Saint-Andrieux (2008).

- Méthode de chasse et consommation du gibier

La chasse aux sangliers peut se pratiquer seul, à l'affut, mais plus généralement s'opère en groupe. Elle est alors structurée en battue, pratique de chasse collective qui consiste à rabattre les sangliers présents dans l'espace de chasse vers des tireurs. Lors de la battue, les chasseurs sont répartis par le chef de battue entre différentes fonctions: tireurs, voix et rabatteurs (Madary, 2007). Une fois la battue finie, les animaux abattus sont dépouillés, par un (des) membre(s) de la battue ou une personne extérieure à la battue, possédant un savoir-faire boucher. Cette organisation implique que, en terme de risque zoonotique, tous les acteurs de la battue au sens large ne sont pas exposés de la même manière aux dangers, et que selon le rôle des personnes, les modalités de transmission des maladies pouvant permettre une contamination ne sont pas les mêmes à considérer.

La carcasse du sanglier est ensuite découpée en portions qui sont réparties entre les membres de la battue, chacun procédant ensuite à une auto-consommation, en famille ou entre amis, ou à des dons dans des circuits courts (réseaux familiaux ou amicaux). Lorsque le sanglier est destiné à une commercialisation de type « circuit long », la carcasse doit faire l'objet d'un contrôle sanitaire (cf. P1-I.3.2, p.24).

La part de l'auto-consommation dans le volume global de sangliers abattus n'est à notre connaissance pas estimée. Pourtant, cette donnée serait utile pour l'estimation du risque zoonotique.

Ces fortes interactions cynégétiques entre gibier et homme soulignent l'intérêt de prendre en considération les conséquences éventuelles de ces contacts en terme d'exposition des chasseurs, mais aussi des consommateurs, aux maladies zoonotiques dont le sanglier peut être source.

La large distribution géographique de l'espèce et l'augmentation des effectifs chassés, indicateur d'une augmentation simultanée des effectifs des populations, découlent notamment de l'adaptabilité du Sanglier vis-à-vis d'un grand nombre de biotopes (Baubet, 1998). Cette adaptabilité est à mettre en rapport avec la biologie de l'espèce. C'est pourquoi nous nous attachons à développer ces aspects de biologie du Sanglier dans le chapitre suivant, pour les mettre en rapport avec notre problématique générale, l'épidémiologie des zoonoses.

II.2. Biologie de l'espèce et conséquences en épidémiologie

II.2.1. Biotope et occupation de l'espace

Capable d'occuper une grande variété de milieux naturels, les sangliers s'adaptent à toutes sortes d'habitats pourvu qu'il y ait de la nourriture, une végétation haute où ils puissent se dissimuler (fourrés), de l'eau pour boire et prendre leurs bains de boue (Maillard, 1996; Baubet, 1998). Les grands massifs forestiers, feuillus ou mixtes, sont leurs domaines de prédilection, surtout s'ils sont peu visités et si leur étage inférieur est riche en fourrés, ronciers ou bruyères, où ils peuvent se baigner au sec et à l'abri du vent. Il est présent par ailleurs dans le maquis méditerranéen, les garrigues, les landes ou les marais - le Sanglier étant un très bon nageur. Il peut même habiter des zones de culture où la surface boisée résiduelle n'atteint que 10 % (Boulloire and Vassant, 1989). En montagne, il peut monter jusqu'aux alpages les plus élevés l'été.

Ces données indiquant un biotope très varié permettent de souligner que le territoire des sangliers peut alors se superposer à celui des animaux d'élevage, notamment lorsque celui-ci est extensif ou de type « biologique » (Artois *et al.*, 2006). Ceci peut avoir des conséquences en termes de transmission interspécifique de pathogènes à survie tellurique comme les brucelles, les mycobactéries ou le bacille charbonneux (Hars *et al.*, 2004a). Au delà de la simple superposition de territoire, l'existence de contacts directs entre animaux sauvages et domestiques représente un risque majeur de contamination des troupeaux, ce risque étant particulièrement élevé entre porc et sanglier (voir chapitre II.2.5., p.37).

Le domaine vital se compose d'un domaine nocturne consacré à l'alimentation et d'une aire consacrée au repos diurne, aussi appelée « domaine de bauge ». La surface de ce dernier varie de 5 à 10 km² pour une compagnie (femelles et jeunes) à 20 km² pour les mâles. Le domaine nocturne est généralement plus étendu et variable (Baubet, 1998).

En dehors des déplacements dus à la chasse, le Sanglier est un animal plutôt sédentaire : les individus se déplacent le plus souvent dans un rayon de 10 km autour de leur lieu de naissance. Des déplacements plus longs peuvent survenir exceptionnellement à l'occasion de la dispersion des jeunes mâles de 18 mois ou de la chasse en battue, dont l'influence sur les déplacements est plus importante chez les mâles (Brandt *et al.*, 2005). Les femelles quittent en effet leur secteur habituel lorsqu'elles sont dérangées mais le retour est quasi systématique. Aussi, Rossi (2005) suggère qu'il faut s'attendre à une propagation des infections s'effectuant de proche en proche plutôt que sur de grandes distances.

II.2.2. Régime et comportement alimentaire

Le Sanglier est un omnivore opportuniste, adaptant son régime alimentaire aux ressources disponibles dans son environnement (Brandt *et al.*, 2006). Pour la plus large part, son régime alimentaire est composé d'éléments végétaux, par exemple de fruits forestiers (glands, châtaignes, etc.), de plantes cultivées, de racines et tubercules. Cette part végétale peut représenter jusqu'à 90-95% de sa ration journalière, y compris en milieu méditerranéen (Pinna *et al.*, 2007). Le reste de son régime alimentaire est composé d'insectes, de vers, de gastéropodes, et occasionnellement de petits rongeurs ou de charognes, voire de déchets trouvés sur des décharges ou de viscères d'animaux tués à la chasse.

Sachant que les rongeurs sont impliqués dans de nombreux cycles épidémiologiques de zoonoses (Mills and Childs, 1998), la consommation de micromammifères peut donc se révéler un aspect majeur à considérer. Par ailleurs, le comportement charognard facilite l'entretien de parasites à cycles hétéroxènes, comme les trichinelles (*Trichinella sp.*) (Pozio and Zarlenga, 2005), et explique que les sangliers peuvent être contaminés par des germes résistants dans les carcasses comme le virus de la fièvre aphteuse (Meyer and Knudsen, 2001; Doran and Laffan, 2005). Ce type de comportement peut aussi participer à la propagation intra-population d'une infection causant une mortalité importante, comme par exemple la peste porcine classique (PPC), les sangliers pouvant se contaminer en consommant les carcasses de leurs congénères infectés. Dans le cas de la PPC le contact direct demeure toutefois la voie de contamination majeure (Rossi, 2005).

Le comportement fouisseur des suidés favorise quant à lui l'émergence d'infections à germes telluriques expliquant sans doute pourquoi le Sanglier, comme le Cerf d'ailleurs qui broute au niveau du sol, est porteur dans de nombreuses régions d'Europe de tuberculose bovine, contrairement au Chevreuil qui consomme essentiellement des végétaux arborés (in Rossi, 2005).

<p>Le comportement alimentaire du Sanglier suggère donc que cette espèce peut être exposée à de multiples voies d'infestation/ infection : par contact avec le sol et l'eau ou par ingestion de cadavres ou rongeurs contaminés.</p>
--

II.2.3. Organisation sociale

Les femelles et les jeunes vivent en compagnie, ou harde, de 10 à 20 individus, conduite par une laie dite « meneuse ». Les animaux d'une même compagnie partagent les

mêmes aires de repos ou d'alimentation, et les jeunes pratiquent l'allaitement croisé, une femelle pouvant allaiter d'autres marcassins du groupe que les siens (Delcroix *et al.*, 1985). Cette structure favorise la transmission intra-spécifique des pathogènes entre individus d'un même groupe. Entre compagnies, la transmission d'agents pathogènes est susceptible d'intervenir par contacts directs ou indirects lorsque les groupes partagent les mêmes territoires, notamment au niveau des places d'agraineage ou dans les zones refuges lors de la chasse en battue (Rossi, 2005).

Les mâles quittent le groupe vers l'âge de 15 à 18 mois et deviennent solitaires sauf pendant la période du rut qui a lieu d'octobre à février. Cette période de rut peut être plus ou moins précoce selon que l'année soit une année propice ou non à la production de glands (Baubet, 1998). Lors d'affrontement violents entre mâles, des blessures parfois importantes peuvent être occasionnées. Le Sanglier mâle étant polygyne, la période de rut peut aussi favoriser la propagation de maladies sexuellement transmissibles d'un groupe à l'autre, un mâle pouvant s'accoupler avec des femelles de groupes différents (Boulloire and Vassant, 1989).

II.2.4. Caractéristiques démographiques

Chez le Sanglier, la variation de l'effectif d'une population est bien plus fortement influencée par les paramètres de la reproduction que par la survie adulte, ce qui n'est pas le cas chez les autres ongulés (Baubet *et al.*, 2004).

La taille de portée moyenne est de cinq petits (Servanty *et al.*, 2007). Cette fécondité, ainsi que la fertilité (proportion de femelles accédant à la reproduction) sont conditionnées par la masse corporelle des femelles et les ressources environnementales. Ainsi, lors d'une glandée importante l'année de la reproduction, la taille de portée peut être augmentée en moyenne d'un fœtus. De plus, la date d'entrée en reproduction est influencée par l'alimentation disponible durant l'année en cours, mais aussi durant la saison précédente (Baubet *et al.*, 2004).

Le taux de natalité est par ailleurs favorisé par la chasse qui induit un biais dans la composition de la population en faveur des femelles, les mâles étant davantage chassés.

L'essentiel des naissances survient en avril-mai au terme de 115 jours de gestation, mais un second pic de naissances au cours de l'été est parfois observé. De plus, l'arrivée en œstrus des jeunes laies étant plus tardive que pour les femelles adultes, des naissances peuvent s'étaler de janvier à septembre.

La réceptivité des individus aux infections étant variable en fonction de l'âge, la structure démographique est importante à considérer dans l'étude de la circulation des pathogènes (Rossi, 2005) : plus la population sera composée d'individus jeunes, sensibles aux infections, plus la circulation des pathogènes sera favorisée.

Pour étudier la composition en âge, on utilise souvent la composition du tableau de chasse. Il faut cependant avoir conscience que cet estimateur peut être biaisé de 2 manières : d'une part les chasseurs prélèvent davantage les jeunes et les mâles et d'autre part l'estimation de l'âge, le plus souvent basée sur la masse corporelle des individus, l'aspect du pelage, et parfois sur l'inspection de la dentition, peut comporter des erreurs. L'estimateur d'âge le plus précis est l'observation des dents, notamment les molaires définitives, dont l'émergence est fonction de l'âge (avant six mois pour la première molaire, avant 14 mois pour la seconde, et avant 24 mois pour la troisième). Cet estimateur permet certes de définir quatre classes d'âge de manière relativement fiable (marcassins < 6 mois, juvéniles 6-12 mois, subadultes 12-24 mois, adultes > 24 mois), mais il est difficile à utiliser en pratique car il nécessite la collecte des mâchoires inférieures.

La mise en rapport de l'aspect de la robe (rayée < 4-5 mois, rousse < 10 mois, noire > 10 mois) avec le poids de l'animal est une alternative. Cependant il faut noter que le poids dépend fortement de la disponibilité alimentaire qui varie elle-même avec le territoire et l'année (Gaillard *et al.*, 1992), et donc peut induire un biais. Par ailleurs, des confusions de classement peuvent survenir entre subadultes et adultes en fonction du genre : d'après Rossi (2005), « les femelles adultes peuvent perdre beaucoup de poids durant l'allaitement et se voir classées à tort comme subadultes, et les mâles subadultes peuvent atteindre un poids carcasse largement supérieur à 50 Kg durant leur deuxième année et être classés à tort comme des adultes ».

Enfin, la chasse induit une faible espérance de vie (inférieure à 3 ans en moyenne). Les populations chassées de sangliers sont donc soumises à un renouvellement important (turn-over), et composées majoritairement de jeunes de l'année avant la chasse (Boulloire and Vassant, 1989; Collectif, 2004).

Tous ces facteurs démographiques (forte prolificité, étalement des naissances, fort renouvellement des individus) concourent à l'obtention d'une population constituée en majeure partie d'individus jeunes et réceptifs aux agents infectieux, qui sont donc susceptibles de faciliter la circulation intra-spécifique et la pérennisation d'agents infectieux dont la persistance reposerait sur le recrutement rapide de nouveaux individus réceptifs (Rossi, 2005).

II.2.5. Proximité phylogénétiques et contacts avec le Porc

Dans certaines zones géographiques, comme en Nouvelle-Zélande ou en Australie, les populations locales de suidés sauvages sont issues de cochons marronnés (feral pigs) (Larson *et al.*, 2005). Aussi, fonction de l'aire du globe considérée, l'appellation de cochon sauvage (wild pig) pour qualifier les suidés sauvages présents remplace parfois celle de sanglier (wild boar), au sens « indigène » du terme. Dans certains cas, où porc d'élevage et suidés sauvages autochtones sont présents, l'apparition dans la population sauvage d'individus hybrides peut survenir. En effet, en Europe de l'Ouest par exemple, malgré les différences chromosomiques entre le Sanglier (*Sus scrofa scrofa*, 36 chromosomes) et le Porc domestique (*Sus scrofa domesticus*, 38 chromosomes), les individus domestiques et sauvages sont interféconds et leurs produits (à 36, 37 ou 38 chromosomes) sont fertiles (Randi, 1995).

La proximité phylogénétique entre Porc et Sanglier suggère que les agents pathogènes n'auraient pas de barrière de spécificité à franchir, favorisant l'inter-transmission de maladies. Rossi (2005) souligne toutefois que des analyses génétiques utilisant l'électrophorèse des protéines et le séquençage de l'ADN mitochondrial montrent des différences génétiques entre le Sanglier et le Porc (Randi, 1995), et que cette différence génétique pourrait laisser supposer des différences de sensibilité aux maladies, comme cela peut d'ailleurs être le cas entre différentes races de porcs (Van Oirschot, 1999).

Le développement de l'élevage de porcs en plein air constaté depuis le début des années 90 en France augmente les risques de contacts entre suidés domestiques et sauvages. En effet, « considérant que le risque de transmission indirecte d'agents pathogènes est globalement maîtrisé grâce aux législations interdisant la distribution d'eaux grasses aux porcs domestiques et l'agrainage des sangliers avec des produits non végétaux, les modes de transmission directe - par contact de groin à groin, par accouplement ou par succession des animaux sur un même lieu récemment souillé par des déjections ou exsudats infectieux - semblent prépondérants et concernent avant tout les élevages de porcs en plein air dans lesquels des intrusions de sangliers sont couramment observées » (Hars *et al.*, 2008).

Le cas de contacts sexuels mérite d'être détaillé. En effet, comme le souligne Hars *et al.* (2008), les porcs et les sangliers, qui appartiennent à la même espèce, cherchent à s'accoupler. Ce type de comportement favorise l'échange d'agents pathogènes, en particulier de maladies à transmission sexuelle comme la brucellose et la maladie d'Aujeszky. En

France, on observe effectivement des foyers de brucellose et de maladie d'Aujeszky dans les élevages de porcs en plein air, suite à des accouplements sanglier-truie (Hars, 2000). A l'inverse, les porcs infectés de peste porcine en zone d'élevage extensif peuvent transmettre cette virose au Sanglier (Laddomada, 2000).

De part leur proximité phylogénétique et, dans certaines conditions, leur sympatrie, Porc et Sanglier peuvent donc échanger des agents pathogènes. Or, le porc est lui-même une source d'agents zoonotiques. Historiquement, il est possible que cette considération soit à l'origine de certaines pratiques culturelles, notamment musulmane et juive – cette théorie étant cependant controversée (Pastoureau, 2009). Quoi qu'il en soit, le porc issu d'élevage intensif demeure la source potentielle de 36 agents parasitaires, bactériens ou viraux transmissibles à l'Homme par consommation de viande (Fosse *et al.*, 2008).

Proximité phylogénétique avec le Porc et réceptivité probablement commune à des agents pathogènes, contacts étroits dans certaines conditions avec le Porc, lui-même source d'agents zoonotiques : tous ces aspects, mis en rapport avec une biologie de l'espèce qui favorise la circulation des agents pathogènes et la transmission à l'Homme, nous confirment l'importance de considérer le Sanglier en tant que gibier modèle d'étude de zoonoses.

Le chapitre qui suit permet de dresser un tour d'horizon des agents zoonotiques connus chez le sanglier et de détailler les trois pathogènes de notre étude en Corse, avant d'envisager la surveillance de ces maladies chez les suidés sauvages.

II.3. Agents pathogènes zoonotiques du sanglier

II.3.1. Des suidés sauvages, des pathogènes... et des hommes

Comme nous avons pu le voir dans le chapitre P1-I.4. (p. 25), le spectre zoonotique potentiel du sanglier est large et les voies de transmission à l'Homme dominées par les contacts directs : l'Homme, chasseur ou consommateur, s'infeste/infecte majoritairement lors de la manipulation et du dépeçage du gibier, ou de la consommation de la viande, insuffisamment cuite.

Dans ce chapitre nous nous proposons donc de revenir sur les dangers zoonotiques du sanglier dont la transmission s'effectue par contact direct. Le tableau 1.2 synthétise les informations concernant ces agents pathogènes en indiquant pour chacun d'entre eux les symptômes et données de présence chez les suidés, les modalités de transmission et manifestations cliniques chez l'Homme.

Table 2 : Agents potentiellement zoonotiques décrits chez le sanglier, symptômes chez les suidés et présence chez le sanglier, voie de transmission et symptômes chez l'Homme, d'après les données de Dhondt (2005) et, pour l'Hépatite E, Renou *et al.* (2007) et Nicand *et al.* (2009), pour la brucellose Rossi *et al.* ; (2008). En gras, et décrites en premier dans le tableau, les maladies à déclaration obligatoire¹⁹ chez l'Homme.

Agent pathogène	Symptômes chez les suidés	Présence chez le sanglier	Transmission du gibier à l'Homme	Maladie chez l'Homme
<i>Brucella spp.</i> (<i>B. abortus</i> ou <i>B. suis</i>)	Avortements, métrites mucopurulentes, orchites accompagnés de lymphadénites, abcès sous-cutanés, musculaires ou rénaux et arthrites suppuratives et déformantes	France (2000-2004 ; 75 départements) : 39% (sérologie) dont <i>B. suis</i> biovar 2 11%	Manipulation (placenta, avortons), par voie cutanéomuqueuse	Brucellose : symptomatologie fonction de l'espèce de brucelles ; forme majeure (<i>B. suis</i> biovar 1 et 3), mineure (<i>B. abortus</i>) ou inapparente (<i>B. suis</i> biovar 2).
<i>Bacillus anthracis</i> / agent de la fièvre charbonneuse	Sensibilité supposée du Sanglier. Chez les suidés : forme chronique avec œdème du pharynx et de la langue et septicémie hémorragique	Pas de données faune sauvage	Manipulation d'animaux malades (voie cutanée, aérosols) consommation de viande ou vecteur, milieu extérieur	Charbon bactérien cutané (si inoculation cutanée), pulmonaire (si inhalation) ou gastro-intestinal (ingestion)
<i>Francisella tularensis</i>	Asymptomatique chez l'adulte ; marçassins : fièvre avec difficultés respiratoires	Présence rapportée en France, y compris en Corse. République tchèque : 6% (sérologie)	Manipulation (voie cutanée, même peau saine, ou inhalation), consommation de viande et vecteur	Tularémie : inapparente ou fièvre, forme ulcéro-ganglionnaire (inoculation), pulmonaire (inhalation) ou gastro-intestinale (ingestion). Cas liés à manipulation de sanglier décrits en France
<i>Mycobacterium bovis</i> (voir II.2.1.3)	Asymptomatique ou nodules caséo-calcaires sur différents organes (ganglions céphaliques, poumons, foie, mésentère)	Lésions : de 1,8 % à 100% en Europe	Manipulation (voie cutanée ou inhalation) et consommation de viande	Tuberculose : forme cutanée, pulmonaire ou extra-pulmonaire, en fonction du mode de contamination
<i>Trichinella sp.</i> (voir II.2.1.1)	Peu symptomatique (± entérite, anorexie, prostration, myalgie)	Sérologie : de 1,4% à 8,7% en Europe	Consommation de viande	Trichinellose : gastro-entérite, puis œdème de la face, myalgie. Forme chronique possible
<i>Toxoplasma gondii</i> (voir II.2.1.2)	Asymptomatique ou rarement forme sévère	Sérologie : de 8,1% à 38,4% en Europe	Consommation de viande	Toxoplasmose : asymptomatique le plus souvent ou forme neurologique (sujet immunodéprimé) ou congénitale (malformation, avortement, atteinte oculaire)
<i>Rotavirus</i>	Asymptomatique chez l'adulte ; jeune de moins de 2 mois : diarrhée, prostration	Pas de données faune sauvage	Manipulation (voie orale)	Rotavirose : diarrhée, vomissements, déshydratation (enfant de moins de an et sujets immunodéprimés)
Virus de l'Hépatite E	Asymptomatique le plus souvent	Japon : 10% (sérologie) Espagne, 8 régions : 42,7% en sérologie, 19,6% en virémie France : présence	Consommation de foie cru ou contact direct	Asymptomatique ou hépatite aigüe
<i>Coxiella burnetii</i>	Asymptomatique le plus souvent ou avortements, naissances prématurées	République tchèque : 6% (sérologie)	Manipulation (voie cutanée ou aérosols) voire vecteur (tiques)	Asymptomatique ou Fièvre Q : syndrome grippal (fièvre, asthénie, frissons, arthralgies, ...), rarement pneumopathie, hépatite, méningo-encéphalite, péricardite, myocardite. Chez la femme enceinte : avortements, naissances prématurées

¹⁹ Article L. 3113-1 du Code de la Santé publique, décrivant la liste des maladies devant faire l'objet en France d'une transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire par les médecins et les responsables des services et laboratoires d'analyses de biologie médicale publics et privés.

Table 2 (suite)

Agent pathogène	Symptômes chez les suidés	Présence chez le sanglier	Transmission du gibier à l'Homme	Maladie chez l'Homme
<i>Chlamydia spp. (C. abortus ou C. psittaci)</i>	Avortement, mortalité, orchites (mâles) ou asymptomatique (réinfection)	Allemagne : 57,1% (PCR*)	Manipulation (voie aérienne ou cutanée)	Chlamydie : chez la femme enceinte, fièvre, céphalée, nausées, naissance prématurée, avortement, mortalité
<i>Pasteurella multocida</i>	Généralement asymptomatique (portage dans l'oro-pharynx) ou, si stress, syndrome respiratoire, voire septicémie hémorragique	France : 31,4% (anticorps anti- <i>P. multocida</i> sérotype A)	Manipulation (morsure, contamination de plaie ou aérosol)	Pasteurellose : généralement formes localisées cutanées, voire arthrite, ostéomyélite, ou formes généralisées (sujets âgés ou immunodéprimés) Très rarement méningites ou septicémies
<i>Streptococcus suis</i>	Asymptomatique le plus souvent ou méningites et pneumonie	Présence rapportée en France	Manipulation (voie cutanée). Deux cas rapportés chez des chasseurs en France	Streptococcie : Généralement méningite, surdité bilatérale, voire endocardites, pneumonies, arthrites, diarrhées, affections oculaires.
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae / bacille du rouget</i>	Généralement asymptomatique. Forme aiguë (plaques d'urticaire sur abdomen, cuisses, cou et oreilles, puis dyspnée, diarrhée et mort) ou chronique (arthrites)	France : présence rapportée, pas d'estimation de prévalence. Espagne : 5% (sérologie)	Manipulation (voie cutanée si blessure)	Erysipéloïde : forme cutanée (macule érythémateuse très prurigineuse), rarement septicémique
<i>Sarcoptes scabiei</i>	Dépilations très prurigineuses sur tête, cou voire tout le corps, altération état général, décès	France : présence fréquente rapportée	Manipulation (voie cutanée)	Gale : papules très prurigineux
<i>Salmonella spp.</i>	Clinique fruste chez l'adulte (asthénie, amaigrissement et mort), mort subite possible chez le jeune	Présence rapportée en France, en Allemagne et en Italie. Espagne : 3-4% par sérologie	Manipulation (voie orale) et consommation de viande	Salmonellose : forme gastro-intestinale, rarement localisées (arthrite, endocardite, méningite, hépatite)
<i>Yersinia spp. (Y. pseudotuberculosis ou Y. enterocolitica)</i>	Généralement asymptomatique ; si infection massive, diarrhée, amaigrissement, mort	Présence rapportée en Bulgarie	Consommation de viande et manipulation (voie orale)	Yersiniose : généralement peu pathogène. Chez l'enfant, adénite méésentérique ou pseudo-appendicite aiguë. Septicémie grave (sujets âgés ou immunodéprimés)
<i>Sarcocystis suis hominis</i>	Fonction du nombre de sporocystes ingérés. Diarrhée, maigreur, prostration ; avortements, prématurés	France (1987): 34% (kystes cardiaques ou œsophagiens, espèces non identifiées). Pologne (2001): 24,7% (kystes, espèces non identifiées).	Consommation de viande	Sarcocystose intestinale (seuls <i>S. suis hominis</i> et <i>bovii hominis</i> sont pathogènes) : nausée, vomissements, douleur abdominale, diarrhée
<i>Leptospira interrogans sensu lato</i>	Asymptomatique	Pologne : 25% (sérologie) Espagne : 12% (sérologie)	Manipulation (voie cutanée ou orale)	Leptospirose : inapparente ou syndrome douloureux fébrile pseudo-grippal, parfois compliqué de syndrome ictéro-hémorragique, méningé et/ou pulmonaire
<i>Ascaris suum</i>	Chez le jeune : troubles respiratoires (migration larvaire), diarrhée, amaigrissement, voire mort	France (1986-1993) : 60%	Via milieu extérieur ou très rarement manipulation.	Ascarioses : chez l'enfant symptômes respiratoires frustes, asthmatiformes, lésions hépatiques possibles

* Polymerase chain reaction : amplification en chaîne de l'ADN par la polymérase

Pour une partie des agents décrits, les symptômes chez l'Homme sont peu sévères ou non pathognomoniques (syndromes intestinaux ou grippaux). De plus, seules quatre de ces

maladies sont à déclaration obligatoire chez l'Homme (brucellose, charbon, tuberculose et tularémie). Ces deux premiers aspects peuvent impliquer un sous-diagnostic des zoonoses décrites ici. Par ailleurs, la relation épidémiologique entre la maladie chez l'Homme et un contact infectant avec un gibier contaminé n'est pas toujours aisée à établir. Aussi, la réelle incidence de ces maladies chez l'Homme, liée à une exposition à un gibier contaminant, est difficilement objectivable.

Nous avons toutefois relevé dans la littérature que, en France, des cas humains de tularémie liés à la manipulation de sanglier ont déjà été décrits (Lecostumier, 1994). Par ailleurs, en 2003, 3 cas de streptococcie liée au sanglier (Bensaid *et al.*, 2003), et, de 1975 à 2006, 128 cas de trichinellose due à la consommation de viande de sanglier (De Bruyne *et al.*, 2006) ont été rapportés.

De nombreuses maladies répertoriées ont une transmission cutanée, à la faveur d'une plaie, voire à travers une peau saine (tularémie), ou bien orale, par l'intermédiaire des mains souillées au moment du dépeçage. Aussi, Dhondt (2005) rappelle que, dans une grande majorité de cas, des mesures d'hygiène simples suffisent pour écarter le risque de contracter ces zoonoses : port de gants ou à défaut lavage soigneux des mains à l'eau et au savon. Pour plus de sécurité, dans certains cas, un antiseptique peut être appliqué ensuite sur les mains (solutions iodées, hypochlorite de sodium, éthanol à 70% ou gels hydro-alcooliques).

Dix des agents pathogènes décrits entraînent chez le Sanglier une symptomatologie très fruste, voire sont asymptomatiques, l'infection étant inapparente. Il est donc souvent difficile, pour un chasseur par exemple, de détecter le danger chez l'animal sur pied, et même lors du dépeçage. Par ailleurs, les données de présence des agents zoonotiques dans les populations de suidés sauvages d'Europe, y compris en France, sont peu nombreuses, expliquant que le danger est le plus souvent impossible à quantifier chez l'animal source.

Compte tenu de ces derniers éléments, et le fait exposé plus haut que les maladies sont probablement sous-diagnostiquées chez l'Homme, l'estimation du risque zoonotique lié au sanglier est difficile à envisager sans travaux complémentaires et spécifiques permettant d'éclairer ces points.

II.3.2. Les agents pathogènes étudiés

Dans ce chapitre consacré à la présentation des agents zoonotiques étudiés dans la seconde partie de cette thèse, nous avons focalisé notre revue de littérature sur les aspects zoonotiques et épidémiologiques pouvant être utiles à la compréhension de nos développements en Corse. Nous détaillerons ainsi notamment des informations concernant la taxonomie (génotypes et répartition des souches), les cycles biologiques et parasitaires (hôtes et modalités de transmission) et les maladies (clinique, techniques diagnostiques, prévalence ou incidence) chez le sanglier et chez l'Homme des trois pathogènes.

II.3.2.1. *Trichinella* et la trichinellose

La trichinellose ou trichinose est une helminthose transmise d'un hôte à un autre par ingestion de viande contenant des larves de nématodes du genre *Trichinella* (ou trichinelles).

II.3.2.1.a. Taxonomie, cycles biologique et épidémiologique

- Taxonomie :

Actuellement, le genre *Trichinella* est constitué d'un complexe de 11 taxons (Soulé and Dupouy-Camet, 1991), espèces ou génotypes, dont la caractérisation se fait le plus souvent à partir de la morphologie des adultes et des larves, la capacité de croisement avec des souches de *Trichinella spiralis*, la capacité de reproduction chez un hôte donné - appréciée par l'indice de capacité de reproduction (IRC) calculé comme le quotient du nombre de larves musculaires développées sur le nombre de larves administrées -, la résistance à la congélation, le profil isoenzymatique et l'analyse génétique (Pozio *et al.*, 1992).

Les espèces et génotypes de *Trichinella* sont regroupés en 2 groupes phylogénétiques, ou clades : le groupe des *Trichinella* encapsulées (5 espèces et 3 génotypes, soulignés en gras dans la table 1.3) et celui des non-encapsulées (3 espèces) (Pozio and Zarlenga, 2005). Les parasites du groupe des "encapsulés" induisent la production chez l'organisme hôte d'une capsule de collagène autour des larves, après pénétration dans la cellule musculaire striée. Par ailleurs, les espèces et génotypes du premier clade ne parasitent que des mammifères, alors que les 3 espèces du second clade infectent des Mammifères, des oiseaux ainsi que, pour 2 d'entre eux (*T. papuae* et *T. zimbabwensis*), des reptiles.

Table 3 : Espèces et génotypes du genre *Trichinella* : répartition géographique, climat, hôtes, infestation décrite chez l'Homme (+ : décrite ; ? : inconnue) et résistance à la congélation, d'après Pozio *et al.* (1992, 2005). Les espèces ou génotypes en gras appartiennent au clade des encapsulés.

Taxon	Répartition géographique	Climat	Hôtes	Infestation de l'Homme	Résistance à la congélation
<i>T. spiralis</i>	Cosmopolite	Tempéré et équatorial	Domestique (porc, cheval), synanthropique (chien, chat, rat, etc.) et sauvage (suidés, carnivores)	+	0
<i>T. nativa</i>	Zone holarctique	Froid	Carnivores sauvages ; sanglier (Estonie)	+	+++
<i>T. britovi</i>	Zone tempérée paléarctique ; Guinée et pays méditerranéen d'Afrique	Tempéré	Carnivores et suidés sauvages, porc, cheval	+	+
<i>T. pseudospiralis</i>	Cosmopolite	Tempéré	Mammifères et oiseaux	+	0
<i>T. murelli</i>	Amérique du Nord	Tempéré	Carnivores sauvages, rat, porc, cheval	+	0
<i>Trichinella T6</i> proche de <i>T. nativa</i>	Zone néarctique Amérique du Nord	Froid	Carnivores sauvages	+	++
<i>T. nelsoni</i>	Du Kenya à l'Afrique du Sud	Tropical	Carnivores (et suidés) sauvages	+	0
<i>Trichinella T8</i> proche de <i>T. britovi</i>	Afrique du Sud, Namibie	Subtropical	Carnivores sauvages (lion, hyène)	?	0
<i>Trichinella T9</i> proche de <i>T. murelli</i>	Japon	-	Carnivores sauvages	?	?
<i>T. papuae</i>	Papouasie N ^{elle} Guinée	-	Suidés sauvages, crocodile	+	?
<i>T. zimbabwensis</i>	Zimbabwe, Ethiopie	-	Crocodile	?	?

- Morphologie et cycle évolutif

Seules des caractéristiques biochimiques et moléculaires permettent de distinguer les espèces et génotypes des 2 clades. En effet, excepté la présence ou non de la capsule, ils ne sont pas morphologiquement différenciables, quel que soit leur stade de développement (Pozio and Zarlenga, 2005).

A l'état adulte, les parasites sont de taille sub-microscopique, c'est-à-dire quasi invisibles à l'œil nu : la femelle mesure 3 à 4 mm de long et 50 à 60 µm de diamètre ; le mâle 1,5 mm de long pour un diamètre de 30 µm. Les stades larvaires quant à eux sont réellement invisibles à l'œil nu, les larves nouveau-nées (Ln-n) mesurant 100 à 160 µm de long et 9 µm de diamètre, et les larves musculaires ou infestantes (L1) 1mm de long et 30 µm de diamètre (Dupouy Camet *et al.*, 1998).

Pour se perpétuer, le cycle parasitaire nécessite le passage chez deux hôtes successifs (ingestion de l'un par l'autre), mais le développement complet – ou cycle évolutif – d'un parasite (de la larve à l'adulte) se réalise chez un même hôte (Fig. 4). Pour les espèces encapsulées, ce développement se décompose en 4 phases (Soulé and Dupouy-Camet, 1991) :

- une **phase stomacale**, qui se produit après ingestion par l'hôte de viande contaminée par des larves musculaires encapsulées. Sous l'action conjuguée de la pepsine et de l'acide chlorhydrique stomacal, les fibres musculaires et la capsule sont digérées, les larves libérées et gagnant en une dizaine de minutes l'intestin où elles pénètrent rapidement dans l'épithélium duodéal ou jéjunal.

- une **phase intestinale**. Pendant cette phase, qui dure environ 8 jours, les larves se développent en adultes, qui s'accouplent, et les femelles donnent naissance aux larves Ln-n (de 200 à 1500 larves par femelle) (Dupouy Camet, 1996).

- une **phase de migration**, pendant laquelle les larves Ln-n traversent la paroi intestinale et circulent dans tout l'organisme pouvant infester transitoirement divers organes (cœur, foie, poumons, etc.) et même traverser la barrière placentaire ou mammaire. Les larves Ln-n ne poursuivent leur développement qu'en pénétrant une fibre musculaire striée ou subissent un phénomène dégénératif.

- une **phase musculaire** marquée par le développement, puis l'encapsulation des larves, nécessaire à leur survie. La cellule musculaire striée semble attirer les larves, et la pénétration active paraît favorisée par une forte vascularisation et une fréquence de contraction élevée. Ainsi les muscles les plus fréquemment infestés sont les masséters, le diaphragme, la langue et les biceps mais il est possible que les larves parasitent aussi les fibres lisses de l'intestin. Pendant cette phase, de grandes quantités d'antigènes sont libérées entraînant la synthèse par l'hôte d'anticorps lui conférant une résistance à une nouvelle infestation.

Les larves acquièrent leur caractère infestant entre le 12^{ème} et le 16^{ème} jour de la phase musculaire, soit 17 à 20 jours après ingestion. Elles peuvent survivre plusieurs années chez l'hôte vivant, et jusqu'à 2-3 mois dans un cadavre. Le cycle se poursuit lors de l'ingestion par un nouvel hôte de muscle infesté.

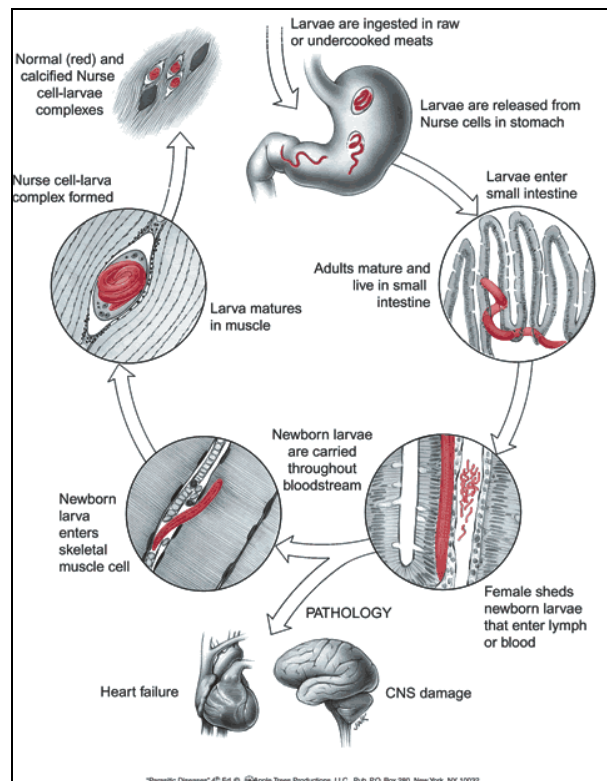


Figure 4 : Cycle évolutif de *Trichinella spiralis* chez un hôte, d'après (Despommier *et al.*, 2005)

- Epidémiologie :

D'après l'OMS, plus de 120 espèces de Mammifères, d'Oiseaux et de Reptiles peuvent héberger les différentes espèces ou génotypes *Trichinella* dans les zones climatiques les plus diverses (table 1.3), l'Homme ne constituant qu'un hôte particulier, en relation avec certaines habitudes alimentaires.

Le cycle épidémiologique des *Trichinella* encapsulées fait intervenir des hôtes vertébrés (carnivores, omnivores, charognard ou herbivores) (Fig. 5).

En zone tempérée, ce cycle général est communément décomposé en deux cycles (Pozio, 2006) :

- un cycle domestique, où la transmission du parasite s'effectue entre le porc, le rat et le chien. Le cheval peut s'insérer dans ce cycle.

- un cycle sauvage (sylvatique), faisant intervenir des animaux sauvages carnivores, omnivores ou charognards, tels que les Canidés (renard), les Viverridés (civette), les Mustélidés (martre et fouine), les Rongeurs et le Sanglier.

L'Homme peut s'insérer dans ces deux cycles, lorsqu'il consomme de la viande d'animal domestique ou de gibier insuffisamment cuite, mais constitue toutefois un cul-de-sac épidémiologique.

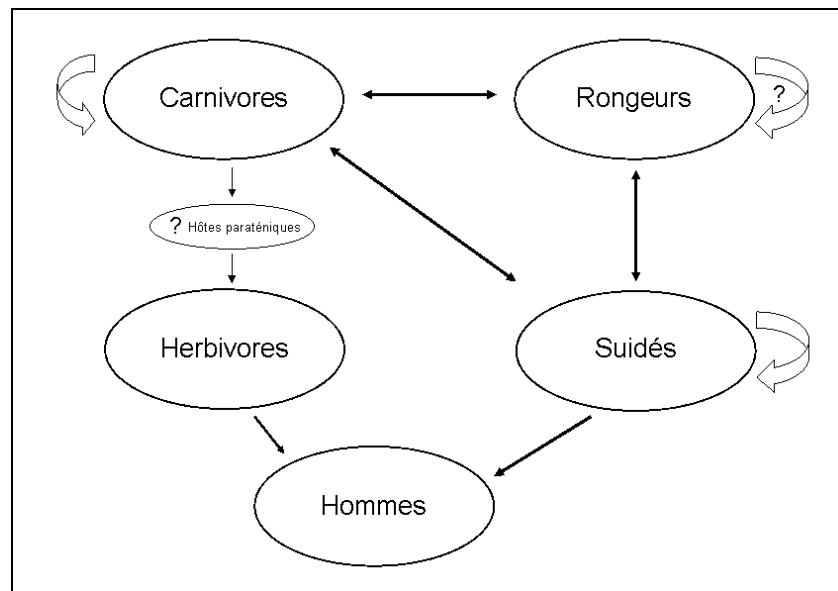


Figure 5 : Cycle épidémiologique de *Trichinella*. Le rôle des hôtes paraténiques (oiseaux, insectes) dans la transmission aux herbivores est supposée mais non-démontrée (Dupouy Camet, 1996) et l'entretien du parasite chez le rat débattu (Pozio and Zarlenga, 2005).

Notons que la distinction entre cycle domestique et cycle sauvage reste artificielle : il existe dans les conditions naturelles des possibilités de transmission de *Trichinella* d'un cycle à un autre, en particulier par la consommation de déchets de muscles d'animaux domestiques par des animaux sauvages et vice-et-versa. Le chien de battue consommant les restes de la préparation des carcasses des sangliers abattus est un cas particulier intéressant à signaler ici.

Selon les espèces de *Trichinella* et les régions considérées le rôle épidémiologique de l'une ou l'autre des espèces peut être différent. A nos latitudes, il semble que le renard soit une espèce-clé majeure dans l'entretien du cycle sauvage de *T. spiralis* et *T. britovi* (Pozio *et al.*, 2009b). Le rôle épidémiologique, tant dans le cycle domestique que sauvage, du rat (*Rattus norvegicus*) demeure quant à lui débattu (Pozio and Zarlenga, 2005) : est-il réservoir, hôte accidentel ou simple vecteur du parasite ? Ce rôle de vecteur a été clairement montré au Canada lors d'une expérience menée par Smith *et al.* en 1976 : après avoir contraint des rats à migrer depuis un élevage de porcs *Trichinella*-positifs vers un élevage de porcs sains, ces auteurs ont mis en évidence quelques mois plus tard que le second élevage était devenu positif (Smith *et al.*, 1976). Concernant le rôle de réservoir, Pozio et Zarlenga (2005) précisent que, bien que l'infestation par *T. spiralis* soit souvent associée à l'infestation de rats vivant dans les abattoirs, les fermes ou les décharges alentours, aucune étude ne montre une infestation par *T. spiralis* chez des rats commensaux de populations de porcs négatifs. Ceci tendrait à indiquer que les rats seuls, en l'absence d'une introduction extérieure de *T. spiralis* dans leur population, ne sont pas capables de maintenir le parasite et donc ne constitueraient pas un réservoir.

II.3.2.1.b. La trichinellose chez le Sanglier

Les données concernant les symptômes de la trichinellose chez l'animal sont issues d'infestations expérimentales chez le porc, le chien, le chat et le cheval. Lors d'infestation massive, un syndrome d'entérite hémorragique se déclare durant la phase intestinale (8 jours post-infestation) accompagnée ou non de coliques, d'anorexie et de prostration. Ces symptômes peuvent se prolonger pendant trois semaines. La phase musculaire débute 15 jours post-infestation et s'accompagne de myosite aiguë dont les conséquences cliniques sont directement en relation avec la localisation musculaire des larves (dysphagie, difficulté locomotrice, prurit) (Euzeby, 1994).

Globalement la symptomatologie est fruste, non pathognomonique et difficilement observable, ce qui explique que la trichinellose est difficilement décelable du vivant de l'animal, en particulier chez le sanglier (Losson *et al.*, 1995).

Des données de présence de la trichinellose chez le Sanglier peuvent être obtenues par des enquêtes épidémiologiques mises en place suite à un foyer humain par consommation de viande de gibier, ou encore issues de l'inspection des carcasses avant commercialisation. Cependant ces données sont soit postérieures à un foyer, soit peu nombreuses ou non représentatives. Aussi, pour estimer la présence du parasite dans les populations de sangliers et prévenir le risque zoonotique, des programmes de recherche doivent être mis en place (table 4).

Table 4 : Résultats de précédentes études concernant la recherche directe ou sérologique de *Trichinella* chez le Sanglier en Europe.

Pays (nombre d'individus testés)	Méthode	Résultats	Référence
Allemagne (n=16 888)	ELISA ¹	1,4%	(Nöckler <i>et al.</i> , 1999)
	Digestion artificielle	< 0,01%	
Suisse (n=356)	ELISA	8,7%	(Gottstein <i>et al.</i> , 1997)
	Digestion artificielle	0	
Pays-Bas (n= 358)	ELISA	6,8%	(van der Giessen <i>et al.</i> , 2001)
France (n= 4517)	ELISA	4%	(Hars <i>et al.</i> , 2007)

¹ Enzyme-linked immunosorbent assay

Les résultats de prévalence (détection directe) sont basés sur la recherche de larves dans les muscles striés électifs (piliers du diaphragme, masséters ou langue) (Kapel *et al.*, 2005) par des méthodes de trichinoscopie ou de digestion artificielle (ou digestion pepsique).

Cette dernière méthode, actuellement préconisée (Beck *et al.*, 2005), est décrite en détail dans le règlement 2075/2005²⁰ de la Communauté Européenne (European Economic Community, 2005). Basée sur la détection et la reconnaissance morphologique de la larve de *Trichinella*, cette méthode est très spécifique. Sa sensibilité analytique est de minimum 1 larve par gramme de viande (digestion de 5 g de muscle par individu testé) (Gajadhar *et al.*, 2009).

Les études de séroprévalence utilisent le plus souvent une méthode sérologique permettant la détection indirecte d'anticorps (IgG), l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) E/S utilisant des antigènes excréteur/ sécréteur de *T. spiralis* (Møller *et al.*, 2005). Moins spécifique que la méthode de détection directe du fait de la possibilité de réaction croisée (spécificité de 98% chez le porc), cette méthode sérologique est en revanche très sensible car capable de détecter une réponse immunologique liée à une infestation de seulement 0,01 larve par gramme (Gamble *et al.*, 1983). Par ailleurs cette méthode sérologique permet la détection d'anticorps chez les suidés 3 à 4 semaines post-infestation (p.i.) (Kapel et Gamble, 2000 ; Kapel, 2001). Pour *T. britovi* une production d'anticorps reste détectable plus de 40 semaines p.i. (Kapel et Gamble, 2000).

Les différences de sensibilité et de spécificité entre la sérologie et la détection directe expliquent certainement pour partie les résultats différents obtenus avec ces deux méthodes en Allemagne et en Suisse par exemple (Table 1.4). Nous reviendrons sur ces questions de sensibilité et de spécificité des tests dans la deuxième partie de cette thèse.

La méthode sérologique permettant de traiter un grand nombre d'échantillons assez rapidement, elle peut être utilisée lors d'enquêtes épidémiologiques de grande ampleur (Gajadhar *et al.*, 2009). Des résultats d'études précédentes (Table 1.4) en Europe mettent ainsi en évidence que les populations de sangliers sont effectivement exposées au parasite et le sanglier représente une source potentielle de trichinellose pour l'Homme.

II.3.2.1.c. La trichinellose chez l'Homme

L'Homme se contamine en ingérant de la charcuterie fraîche (saucisse) ou de la viande de porc, de cheval ou de gibier infestées et insuffisamment cuites. En effet une cuisson permettant d'obtenir une viande grise à cœur (cuisson lente en ragout ou daube) désactive les larves encapsulées et suffit à écarter le risque de zoonose (Gamble *et al.*, 2000). Pour certaines espèces de *Trichinella* (Table 1.4), la congélation peut permettre d'assainir la viande (European Economic Community, 2005). Certaines espèces, comme *T. britovi*, sont en revanche résistantes au froid (Pozio *et al.*, 2006a).

²⁰ Commission Regulation (2075/2005) laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. Official Journal of the European Union, 2005, 338:60-82. <http://eur-lex.europa.eu/JOIndex.do>

La trichinellose ne semble se manifester cliniquement que chez des sujets ayant ingéré au minimum 1 larve par gramme de viande (Vallée *et al.*, 2007). La phase intestinale de multiplication du parasite, survenant une semaine post-infestation, est similaire à celle chez l'animal et provoque des diarrhées, vomissements et gastralgies. Elle peut néanmoins passer inaperçue (Roumier *et al.*, 1992). La phase d'invasion (migration et atteinte musculaire) débute autour du 8^{ème} jour et s'accompagne d'une triade caractéristique : œdème de la face, hyperthermie sévère (41°C) et myalgies à localisation variable. A ces signes classiques peuvent s'ajouter des complications oculaires (photophobie, exophtalmie, strabisme), pulmonaires (dyspnée, toux), neurologiques (céphalées, vertiges, surdité) et cardiaques (arythmie, myocardite). L'avortement et même la mort sont également possibles. Lors d'une infestation à *T. britovi*, il semblerait que les signes cliniques soient moins importants que lors d'une infestation à *T. spiralis*, du fait de la moindre production de larves par les femelles de *T. britovi*. Aucun décès dû à cette espèce de *Trichinella* n'a d'ailleurs été rapporté (Pozio *et al.*, 2003). Pour être effectif, le traitement (anthelminthiques benzimidazolés) doit être mis en place le plus précocement possible avant le début de la réaction inflammatoire d'enkystement. Dans le cas contraire, une forme chronique douloureuse, due à la présence des larves enkystées dans les muscles, peut se maintenir tout au long de la vie.

Notons que dans des cas d'infestation par un faible nombre de larve la symptomatologie chez l'Homme restera fruste (maux de ventre) et ne nécessitera ni consultation ni hospitalisation et la maladie ne passera inaperçue, ne sera pas déclarée officiellement.

Des cas humains d'infestation après consommation de viande de suidés sauvages ont été rapportés en Italie et en Espagne (Pozio *et al.*, 2001b) (Pozio *et al.*, 2001b; Rodriguez de las Parras *et al.*, 2004 ; Gari-Toussaint *et al.*, 2006; Gallardo *et al.*, 2007; Akkoc *et al.*, 2009; Pozio *et al.*, 2009a). L'espèce de *Trichinella* le plus souvent incriminée lors de ces foyers était *T. britovi*.

En France, depuis le début des années 2000, le Centre National de Référence des *Trichinella*²¹ a noté une augmentation de l'incidence de petits foyers de trichinellose dus à la consommation de viande de sanglier (Table 1.5), avec notamment 3 foyers durant l'année 2006. Ces foyers avaient des caractéristiques communes (De Bruyne *et al.*, 2006). En effet ils sont apparus dans des groupes de chasseurs et leur entourage (famille ou amis) et les cas

²¹ Le CNR des *Trichinella*, basé à l'Hopital Cochin à Paris, a pour missions de recueillir des informations sur les cas humains, fournir une aide au diagnostic, aider à la gestion d'une épidémie, donner des conseils thérapeutiques. <http://monsite.wanadoo.fr/cnrdestrichinella/>

cliniques se sont déclarés chez des individus consommant régulièrement de la viande de sanglier mais ayant négligé les règles de cuisson. La viande de gibier avait été découpée par les chasseurs eux-mêmes, n'avait fait l'objet d'aucune inspection sanitaire, et n'avait pas été vendue au public. En revanche, des portions de viande avaient été distribuées dans un cercle privé, et l'identification de la population exposée et la récupération des portions contaminées étaient difficiles. Enfin généralement, plusieurs sangliers avaient été abattus au cours de la même chasse et cuisinés ensemble, rendant aussi difficile l'identification des portions contaminées.

Table 5 : Foyers autochtones de trichinellose due à la consommation de viande de sanglier en France depuis 1975, d'après De bruyne et al. (2006). Départements concernés : A : Pyrénées Orientales, B : Var, C : Pyrénées Atlantiques, D : Haute Garonne, E : Cher, F : Alpes Maritimes, G : Bouches du Rhône, H : Hérault, I : Aude.

Période	Nombre de foyers	Nombre de cas par départements (espèce de <i>Trichinella</i> incriminée)
1975-1980	2	4 ^A , 3 ^B
1981-1985	4	5 ^C , 13 ^D , 39 ^E , 3 ^F
1986-1990	2	11 ^F , 4 ^G
1991-1995	6	10 ^F (<i>T. britovi</i>), 4 ^F , 3 ^G , 3 ^H , 4 ^G
1996-2000	1	4 ^G (<i>T. pseudospiralis</i>)
2001-2005	2	6 ^F (<i>T. britovi</i>), 4 ^I
2006	3	3 ^D , 3 ^B (<i>T. spiralis</i>), 6 ^B (<i>T. britovi</i>)

Aucun de ces foyers ne concernait la Corse.

Ce chapitre nous a permis de mettre en évidence que la trichinellose est une zoonose sérieuse pouvant être contractée par l'Homme par consommation de viande infestée, crue ou insuffisamment cuite. Le sanglier est une source potentielle de trichinellose en Europe et notamment en France, où des cas humains dus à la consommation de viande de sanglier surviennent régulièrement. Cependant, la détection de l'infestation chez l'animal gibier ne peut se faire à l'œil nu et nécessite le recours à des techniques de laboratoire après prélèvement sur la carcasse ; cette recherche n'étant cependant que peu pratiquée dans les cercles privés. Par ailleurs, les données réelles de présence du parasite chez le sanglier sont assez frustes, et, pour pouvoir estimer le risque zoonotique, des études épidémiologiques spécifiques doivent être menées.

II.3.2.2. *Toxoplasma gondii* et la toxoplasmose

Toxoplasma gondii est un protozoaire appartenant à l'ordre des Coccidies, phylum Apicomplexa, responsable d'une infection très répandue chez les animaux homéothermes, y compris l'Homme (AFSSA, 2005).

II.3.2.2.a. Génotypes, formes et cycle parasitaire

- Génotype :

Les souches de *T. gondii* isolées en Amérique du Nord et en Europe appartiennent pour la plupart à l'un des trois génotypes principaux (ou lignées clonales), dénommés types I, II et III (Sibley and Boothroyd, 1992; Howe and Sibley, 1995). Il semble qu'au sein de chaque type les variations génétiques sont mineures (Grigg *et al.*, 2001). Des souches atypiques ont par ailleurs été isolées, généralement dans des biotopes éloignés de l'influence humaine et de celle des chats domestiques.

Chez la souris de laboratoire, le type I est considéré comme virulent, et les types II et III non virulents. Chez l'Homme, en Europe, le type II semble dominant lors d'infection. Plusieurs études mettent en évidence cependant la présence de souches de type I ou atypiques dans des cas de toxoplasmose congénitale et oculaire sévère (Howe *et al.*, 1997; Grigg *et al.*, 2001; Boothroyd and Grigg, 2002). Chez l'animal domestique, le type II semble aussi dominant (Dumètre *et al.*, 2006). Enfin, la distribution des génotypes et leur prévalence chez les espèces sauvages restent mal connues (Dubey *et al.*, 2004a; Dubey *et al.*, 2004b; Aubert *et al.*, 2008). Pourtant, la connaissance de ce type de données concernant la faune sauvage permettrait de disposer de souches autochtones et d'attester de la circulation de ces souches dans l'environnement.

- Formes et cycle parasitaires

T. gondii est un parasite intra-cellulaire obligatoire, qui présente au cours de son cycle trois stades infectieux : les **tachyzoïtes**, les **bradyzoïtes** et les **sporozoïtes** (Dubey *et al.*, 1998). Les tachyzoïtes sont les formes de multiplication active et de dissémination chez l'hôte, les bradyzoïtes sont contenus dans les kystes tissulaires chez l'hôte intermédiaire et les sporozoïtes sont contenus dans des oocystes sporulés présents dans l'environnement.

Le cycle parasitaire comporte 3 phases (Fig. 6) :

- une multiplication asexuée, qui s'effectue chez différents hôtes intermédiaires homéothermes (mammifères et oiseaux) et différents tissus. Cette phase conduit à la

production de kystes tissulaires. En effet, après ingestion et digestion de la paroi de l'oocyste sporulé, les sporozoïtes libérés pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales et se transforment en tachyzoïtes (croissant de 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large). Ces tachyzoïtes se disséminent rapidement dans tous les organes par l'intermédiaire des monocytes/macrophages sanguins et lymphatiques, et s'enkystent dans les tissus, le système nerveux central, la rétine, ainsi que les muscles squelettiques ou cardiaques (Tenter *et al.*, 2000). Ces organes constituent des sources d'infestation pour l'hôte définitif. Les kystes tissulaires, mesurant de 5 à 100 µm, peuvent contenir plusieurs milliers de bradyzoïtes (résultant de la transformation du stade tachyzoïte) au métabolisme adapté à une vie quiescente (Tomavo, 2001).

Le toxoplasme peut être alors transmis entre hôtes intermédiaires par carnivorerisme (consommation de ces kystes tissulaires).

- un cycle sexué, qui s'effectue dans l'épithélium digestif de l'hôte définitif, le chat ou autres félinés sauvages, et conduit à la production d'oocystes. En fait chez cet hôte définitif, la fécondation de la phase sexuée est précédée d'une multiplication (schizogonie) des formes asexuées et de leur transformation en gamétocytes mâles et femelles (gamétogonie).

L'hôte définitif libère dans l'environnement (eau, sol, végétaux), via les fèces, des millions d'oocystes non sporulés (10 à 12 µm de diamètre) contenant un sporoblaste non infectieux (Dubey *et al.*, 1998). Cette excrétion se déroule 3 à 5 jours après l'infection (en cas d'ingestion de kystes) et peut durer pendant 7 à 15 jours (AFSSA, 2005).

- une phase dans le milieu externe, pendant laquelle les oocystes deviennent infectieux après un processus appelé sporogonie, qui permet la formation des sporozoïtes à partir du sporoblaste (1 à 5 jours après excrétion). Les oocystes sporulés peuvent rester quiescents pendant plus d'une année dans le sol avant d'infecter un nouvel hôte intermédiaire ou un féliné.

Cette description du cycle parasitaire permet de mettre en évidence deux voies majeures de contamination pour un hôte :

- la consommation de végétaux souillés (contamination possible d'origine hydrique ou tellurique) ou d'eau contaminée par les oocystes disséminés dans l'environnement.
- la consommation de viande infestée.

Par ailleurs, la transmission congénitale est possible par passage transplacentaire des tachyzoïtes lors de leur phase de dissémination chez une femelle gestante. Enfin, chez l'Homme, la transmission par greffon, lors de transplantation, ou par inoculation accidentelle est plus exceptionnelle.

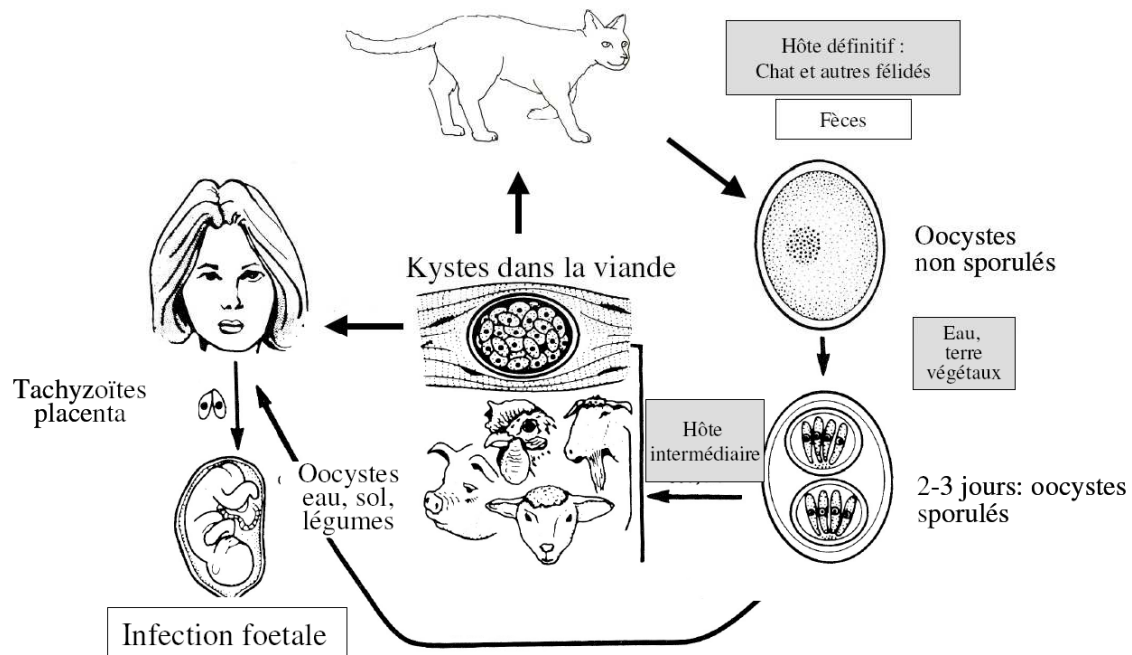


Figure 6 : Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*, d'après Dubey and Beattie (1988)

II.3.2.2.b. La toxoplasmose chez le sanglier

La toxoplasmose clinique sévère (fièvre, anorexie, signes neurologiques, voire mort) et lésionnelle est considérée comme rare chez les suidés domestiques (Dubey, In Press). Par ailleurs, l'effet abortif du parasite chez le porc d'élevage ne semble pas commun (Ruiz-Fons *et al.*, 2006).

A notre connaissance, il n'existe pas de récit de toxoplasmose clinique chez le sanglier. Sur les bases de la littérature chez le porc présentée ci-dessus, nous pouvons raisonnablement supposer que la toxoplasmose est asymptomatique ou de clinique très fruste. Dans les deux cas, *T. gondii* est non détectable à l'œil nu sur un sanglier vivant. De plus, les kystes tissulaires étant de taille microscopique, le parasite n'est pas non plus décelable au moment de la découpe.

La recherche d'une exposition au parasite ou la détection de sa présence chez le sanglier s'effectue par l'utilisation de méthodes sérologiques ou d'isolement du parasite, ou d'ADN parasite (PCR), dans les tissus.

La méthode de référence pour l'isolement de toxoplasmes viables demeure l'inoculation à la souris (voir seconde partie). La présence de toxoplasmes dans le produit inoculé ne peut le plus souvent être détectée qu'après 3 à 4 semaines par la mise en évidence d'une synthèse d'anticorps par la souris et confirmée par la présence de kystes dans leur cerveau. L'inoculation à la souris fournit donc des résultats tardifs. Elle conserve cependant des avantages majeurs : une bonne sensibilité et une spécificité de 100% (AFSSA, 2005). Par ailleurs, elle permet une confirmation objective des résultats de détection d'ADN parasitaire par biologie moléculaire et l'isolement des souches pour une caractérisation ultérieure (détermination du génotype).

En sérologie, plusieurs méthodes ont été développées (table 1.5). Actuellement, la méthode préconisée chez les suidés est un test d'agglutination modifié (MAT, Modified Agglutination Test) (Dubey *et al.*, 1995) (voir partie II). Possédant une bonne sensibilité (82,9%) et une très bonne spécificité (90,3%), cette méthode a été utilisée pour déterminer la séroprévalence de l'infection chez les suidés sauvages aux Etats-Unis, révélant une exposition assez forte du gibier au parasite : 18 % (Dubey *et al.*, 1997) à 37 % (Diderrich *et al.*, 1996) des animaux testés présentaient des anticorps spécifiques anti-*T. gondii*. En Europe, plusieurs études rapportent que l'infestation toxoplasmique est aussi commune chez le sanglier, la séroprévalence pouvant atteindre 38,4% en Espagne (table 6). Les facteurs de risque de cette infection chez le gibier sauvage restent en revanche mal connus.

Table 6 : Résultats de précédentes études concernant la recherche sérologique de *Toxoplasma gondii* chez le sanglier en Europe.

Pays	Année	Séroprévalence en %	Nombre d'animaux testés	Méthode sérologique	Référence
République tchèque	1981-90	15	124	SFDT ¹	(Hejlíček <i>et al.</i> , 1997)
	1999-2005	26,2	565	IFAT ²	(Bártová <i>et al.</i> , 2006)
Slovaquie	2003	8,1	320	ELISA	(Catar, 1972)
Autriche		19	269	IFAT	(Edelhofer <i>et al.</i> , 1996)
Allemagne	1993-94	25	130	IFAT	(Lutz, 1997)
	1997	21	81	IFAT	(Tenter <i>et al.</i> , 2000)
	1997	19	81	ELISA ³	idem
	1997	15	81	SFDT	idem
Belgique		30,6	1239	MAT ⁴	(Cotteleer and Fameree, 1982)
Espagne	1993-2004	38,4	507	MAT	(Gauss <i>et al.</i> , 2005)

¹ Sabin-Feldman dye test

² Indirect immunofluorescent antibody test

³ Enzyme-linked immunosorbent assay

⁴ Modified agglutination test

II.3.2.2.c. La toxoplasmose chez l'Homme

Chez un sujet immunocompétent, l'infection à *T. gondii* est le plus souvent asymptomatique, malgré la persistance des kystes dans les tissus. Lorsqu'elle s'exprime, elle peut se présenter sous plusieurs formes : des formes ganglionnaires (adénopathie cervicale ou occipitale, fièvre, myalgie), qui régressent spontanément, des formes oculaires (rétinochoroïdite, plus ou moins accompagnées de troubles neurologiques), voire des formes sévères (atteintes viscérales, hépatiques, myocardiques, péricardiques, pulmonaires ou neurologiques) (AFSSA, 2005).

Chez les patients immunodéprimés, notamment infectés par le virus du SIDA, l'infection faisant suite à une contamination par voie orale est le plus souvent asymptomatique. En revanche, chez ces individus, des formes graves de toxoplasmose peuvent être consécutives à la réactivation d'une infection acquise antérieurement. L'atteinte cérébrale est alors la plus fréquente. Des formes pulmonaires et disséminées, parfois mortelles, chez les patients ayant un déficit très profond de l'immunité peuvent aussi être observées (Mele *et al.*, 2002).

La toxoplasmose congénitale est due au passage transplacentaire du parasite de la mère au fœtus lors d'une primo-infection. Le risque de toxoplasmose congénitale lié à cette transmission materno-fœtale a été estimé à 29% (Dunn *et al.*, 1999). Pendant les 3 premiers mois de la grossesse, l'infection fœtale est plus rare mais conduit à des formes sévères (hydrocéphalie, atteintes neurologiques, viscérales) voire des avortements, alors que dans le dernier tiers de la grossesse, le passage transplacentaire est plus fréquent mais donne généralement une infection infra-clinique (asymptomatique ou atteinte oculaire de type rétinobulbochoroïdite) (Dunn *et al.*, 1999).

La séroprévalence est variable d'un pays à l'autre (de 7 à 80 %) et parfois à l'intérieur d'un même pays. En France, la séroprévalence a longtemps été élevée (82% en 1960, 66% en 1982 chez les femmes en âge de procréer), mais elle a diminué régulièrement depuis 40 ans pour atteindre 44% en 2003, avec des variations régionales encore mal expliquées. Les conditions climatiques, mais aussi d'autres facteurs de risque, liés au mode de vie et à l'alimentation ont été évoqués pour expliquer ces différences de prévalence (Berger *et al.*, 2007).

De par sa manifestation le plus souvent asymptomatique, l'incidence de la maladie dans la population générale est difficile à évaluer. Des études à partir des données de séroprévalence par âge ont permis d'estimer un nombre annuel de nouvelles infections en France compris entre 200 000 et 300 000 cas avec environ 30 000 à 45 000 cas

symptomatiques. Par ailleurs, en 2003, le taux d'incidence était estimé entre 6 et 7 pour 1 000 femmes enceintes, selon leur âge, ce taux variant beaucoup entre les régions (Berger *et al.*, 2008).

En Europe, la consommation de viande crue ou insuffisamment cuite infestée par des kystes tissulaires est considérée actuellement comme le mode de contamination majeur chez l'Homme, représentant 30 à 63 % des infections décrites, fonction du pays considéré (Cook *et al.*, 2000).

Moins résistants que les oocystes, les kystes tissulaires restent toutefois infectieux dans des carcasses et de la viande hachée réfrigérées (-4°C) pendant plus de 3 semaines. Ils survivent aussi à la congélation entre -1°C et -8°C pendant plus d'une semaine. Il semble que la plupart des kystes soit désactivée à une température inférieure à -12°C mais certaines souches pourraient être cryo-résistantes (Tenter *et al.*, 2000). En revanche, les kystes tissulaires sont détruits à une température supérieure à 67°C ; leur survie à des températures inférieures étant conditionnée par le temps de cuisson. Enfin, dans les produits de charcuterie, leur survie varie avec la concentration de sel et la température de séchage. Si, dans des conditions expérimentales, ils étaient désactivés pour des concentrations en sel de 6% quel que soit le temps de séchage, il a aussi été mis en évidence que les parasites étaient toujours infectieux dans des saucisses de porcs crues faites maison (Dubey, 1997). Le salage, seul, ne semble donc pas être suffisant pour prévenir le risque de transmission de *T. gondii* à l'Homme.

Considérée comme une des sources majeures d'infection par le passé (Dubey and Beattie, 1988), la viande de porc est aujourd'hui moins à risque, l'infection chez les porcs ayant notablement diminué grâce à l'évolution des pratiques d'élevage et au développement du contrôle sanitaire (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, In Press). Le rôle des autres espèces, notamment du gibier, comme source de toxoplasmose pour l'Homme est donc d'autant plus à considérer. Des cas de toxoplasmose ont d'ailleurs été rapportés chez des chasseurs ayant consommé de la viande de sanglier crue (Choi *et al.*, 1997).

Nous avons pu voir au cours de ce chapitre que *T. gondii* est un parasite cosmopolite responsable d'une infection très répandue et parfois sévère chez l'Homme. Le sanglier, notamment en Europe, semble très largement exposé au parasite, et la consommation de viande de gibier comme facteur de risque zoonotique est à prendre en considération. En revanche, les souches et les facteurs associés à cette infection chez le gibier sauvage restent encore mal connus, et nécessitent des études spécifiques.

II.3.2.3. *Mycobacterium bovis* et la tuberculose

La tuberculose à *Mycobacterium bovis*, ou tuberculose dite « bovine », est une maladie bactérienne infectieuse présente sur tous les continents qui atteint préférentiellement les bovins mais aussi d'autres espèces de mammifères dont l'Homme.

A l'heure actuelle, même si l'infection se maintient et/ou réapparaît dans des cheptels bovins de certaines régions, la France est déclarée officiellement indemne de tuberculose depuis 2001 (Anonymous, 2007), conformément aux dispositions de la directive européenne 64/432/CEE. Cette directive stipule en effet qu'un pays peut être déclaré indemne lorsque le taux d'infection dans la totalité du cheptel bovin du pays est inférieur à 0,1% pendant 6 années consécutives. Ce statut indemne a pu être obtenu grâce à des mesures de prophylaxie sanitaires appliquées depuis les années 1950 chez les bovins ; mesures à la fois défensives (protection aux frontières, qualification des étables indemnes) et offensives (dépistage en élevage, assainissement par abattage total, désinfection). Toutefois, l'apparition ces dernières années de foyers sauvages de tuberculose à *M. bovis* indique que la maladie reste présente y compris de manière autochtone, et constitue une menace pour le programme d'éradication de cette maladie en élevage bovin (Zanella *et al.*, 2008).

II.3.2.3.a. Taxonomie et épidémiologie

- Taxonomie et génotypes :

Dans l'ordre des Actinomycétales, les bactéries du genre *Mycobacterium*, ou mycobactéries, sont des bactéries en forme de bâtonnets (bacilles) occasionnellement ramifiées, immobiles, asporulées, aérobies et acido-alcool-résistantes, ce qui leur confère des propriétés diagnostiques (Rastogi *et al.*, 2001).

Au sein du genre *Mycobacterium*, on distingue deux complexes majeurs :

- le complexe « avium », incluant l'agent de la tuberculose aviaire (*M. avium*) et celui de la paratuberculose (*M. paratuberculosis*) (Biet *et al.*, 2005),
- le complexe « tuberculosis », comportant un nombre croissant de membres, dont *M. tuberculosis*, l'agent de la tuberculose humaine contagieuse, *M. caprae*, *M. microti* et *M. bovis* (Brosch *et al.*, 2002).

D'autres mycobactéries n'appartenant pas à ces complexes sont qualifiées d'atypiques.

Les mycobactéries du complexe « tuberculosis » sont assez homogènes sur le plan génétique. Cependant, les techniques moléculaires actuelles permettent une caractérisation

fine des souches de *M. bovis* par l'identification de séquences non codantes polymorphes des mycobactéries. L'une des techniques de typage très utilisée est le spoligotyping (Kamerbeek *et al.*, 1997) qui est à l'origine de la création d'une nomenclature internationale des souches de *M. bovis* (www.Mbovis.org database). Cette technique a permis de mettre en évidence par exemple que la souche BCG-like était prédominante en France continentale (Haddad *et al.*, 2001). La technique utilisant des marqueurs VNTR (Variable Number Tandem Repeats) (Skuce *et al.*, 2005) est encore plus discriminante. Dans tous les cas, ces techniques permettent de réaliser des analyses phylogénétiques et épidémiologiques de la tuberculose et d'attester par exemple dans certaines situations de la transmission de la bactérie entre animaux domestiques et sauvages (O'Brien *et al.*, 2002; Aranaz *et al.*, 2004).

- Epidémiologie :

L'hôte de référence de *M. bovis* est le bovin (*Bos taurus*). De nombreuses espèces domestiques, dont le porc, sont sensibles au bacille, la tuberculose étant plus rare chez les petits ruminants (O'Reilly and Daborn, 1995). Au moins 47 espèces de mammifères sauvages, dont le sanglier, peuvent aussi être infectées par la bactérie (Zanella, 2007).

La transmission du bacille d'un individu à l'autre se produit majoritairement de manière horizontale, soit par contact rapproché (inhalation, morsure) avec un individu malade, qui constitue la source majeure de contagion, soit par ingestion de viande infectée, soit encore par contact indirect, la bactérie pouvant survivre dans le milieu extérieur. Par ailleurs, la transmission pseudo-verticale par ingestion de lait contaminé pourrait expliquer la contamination de jeunes animaux (O'Reilly and Daborn, 1995).

Chez un individu malade, l'excrétion de bacilles est précoce (bien avant l'apparition des symptômes), durable, importante mais intermittente. Les mycobactéries peuvent être évacuées dans l'air exhalé et dans des produits de sécrétions et excréments variés (jetage, salive, expectorations, excréments, lait, urine, pus de lésions cutanées, sperme, sécrétions utérines). Chez le bovin, la contamination se fait à 90 - 95% par voie respiratoire et à 5-10% par voie orale (Artois *et al.*, 2004).

La transmission par une proie infectée à un prédateur a été par exemple montrée dans le cas du furet, en Nouvelle-Zélande, qui se nourrit de phalanger-renards (possums, en anglais) (Coleman and Cooke, 2001).

Artois *et al.* (2004) notent par ailleurs que « la localisation des lésions influence la contagiosité : des lésions « ouvertes » (abcès cutanés ou cavernes pulmonaires) favorisent une

transmission par inhalation, ingestion ou morsure alors que les lésions "fermées" (atteinte hépatique), nécessitant la consommation de l'organe lésé, favorisent une transmission par ingestion » (Artois *et al.*, 2004).

Dans le milieu extérieur, les bacilles tuberculeux sont très résistants au froid, aux milieux acides et à la dessiccation ; les pâturages souillés par de l'urine ou des fèces peuvent rester contaminants pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois (Young *et al.*, 2005). En revanche, les mycobactéries sont sensibles à la chaleur (20 minutes à 60°C) et aux rayons ultra-violets (Duffield and Young, 1985).

II.3.2.3.b. La tuberculose chez le sanglier

D'évolution généralement chronique, la tuberculose se caractérise chez l'animal par des lésions granulomateuses (nodules ou tubercules), caséuses, encapsulées et plus ou moins calcifiées. Elles peuvent être observées dans les poumons et nœuds lymphatiques, mais aussi dans tout autre organe (de Lisle *et al.*, 2002). Au niveau du foie, on observe le plus souvent une forme dite miliaire, c'est-à-dire des abcès nodulaires de petite taille disséminés à la surface du foie et dans le parenchyme hépatique.

Bien qu'apparemment réceptif à l'infection à *M. bovis* (Nugent *et al.*, 2002), il semble que le sanglier soit infecté le plus souvent de manière discrète (Mignone *et al.*, 1992; Mignone *et al.*, 1997), l'état général n'étant alors altéré qu'en fin d'évolution de la maladie. A l'autopsie, il est en effet fréquent que des animaux soient porteurs sans pour autant présenter de lésions macroscopiques. Ces lésions sont principalement localisées au niveau des ganglions rétropharyngiens ou mandibulaires. En Espagne, elles ont aussi été observées au niveau des poumons (Parra *et al.*, 2003) et du foie, des nœuds lymphatiques hépatiques et mésentériques (Gortazar *et al.*, 2003). Les animaux peuvent parfois aussi présenter une forme généralisée (Segales *et al.*, 2005).

Le portage fréquent de la bactérie dans les ganglions céphaliques laisse penser que la voie de contamination majeure est orale (Mignone *et al.*, 1992). Le sanglier se contaminerait en consommant des carcasses infectées (Morris *et al.*, 1994). La maladie peut aussi se transmettre horizontalement de sanglier à sanglier (Parra *et al.*, 2003).

Chez l'animal vivant, les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques de la maladie. De plus le portage asymptomatique est plus fréquent que les formes cliniques. Chez l'animal mort, ni les lésions ni les résultats histologiques ne permettent un diagnostic de

certitude. Concernant les lésions en effet, chez les suidés, des lésions d'apparence typique de *M. bovis* peuvent être dues à des mycobactéries du complexe « avium » ou atypiques, ou encore à une infection par *Rhodococcus equi* (de Lisle, 1994). De plus, des animaux ne présentant pas de lésions macroscopiques peuvent être infectés. Aussi, en pratique, le diagnostic définitif repose sur l'isolement et l'identification de la mycobactérie après mise en culture. Le désavantage majeur de cette technique est le temps nécessaire à l'obtention du résultat (plusieurs semaines à quelques mois) (de Lisle *et al.*, 2002), du fait de la croissance lente des mycobactéries. Des techniques plus rapides d'amplification de l'ADN (PCR) peuvent être utilisées pour la détection de *M. bovis* dans les différents organes et tissus (Wards *et al.*, 1995). Cependant leur sensibilité et leur spécificité sont inférieures à celles de la culture bactérienne, qui demeure la technique de référence (de Lisle *et al.*, 2002; Hénault *et al.*, 2006).

Des cas de sangliers ou cochons marron tuberculeux ont été signalés dans différents pays, et dans certains cas la prévalence estimée de l'infection (ou des lésions) peut se révéler très élevée (Table 7). En Europe, la tuberculose du sanglier est décrite en Italie (Serraino *et al.*, 1999; Bollo *et al.*, 2000) et a été très bien étudiée en Espagne (Gortazar *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2003; Aranaz *et al.*, 2004; Gortazar *et al.*, 2008). Elle a par ailleurs été rapportée en Bulgarie, en Autriche et en Hongrie (Machackova *et al.*, 2003).

Table 7 : Tuberculose à *M. bovis* chez les suidés sauvages (sangliers en Espagne, et en Italie, en gras, ou, cochons marron en Nouvelle-Zélande) : fréquence de lésions macroscopiques et d'animaux positifs à *M. bovis* parmi ceux présentant des lésions macroscopiques (*M. bovis* / lésions).

Pays	Période	Zone(s)	Lésions macroscopiques	<i>M. bovis</i> / lésions	Références
Espagne	1997-2002	Estrémadure	1,80%	92%	(Parra <i>et al.</i> , 2005)
	1999-2004	Différentes régions	28,6% à 100%	-	(Vicente <i>et al.</i> , 2006)
Italie	1995-86	Ligurie	11,50%	43,60%	(Bollo <i>et al.</i> , 2000)
Nouvelle-Zélande	2000-2001	Régions où tuberculose endémique chez les possums	40,50%	87%	(Nugent <i>et al.</i> , 2002)

En France, des sangliers porteurs de *M. bovis* ont été décrits tout d'abord en 2001 en forêt de Brotonne (Seine Maritime et Eure). Ce foyer sauvage majeur, concernant 14% des cerfs et 28% des sangliers de la forêt ainsi que des troupeaux de bovins, a fait l'objet d'une enquête épidémiologique très complète (Hars *et al.*, 2004a, Maeder *et al.*, 2008), d'un suivi et d'une gestion du gibier *ad hoc* (réduction des effectifs d'ongulés sauvages, interdiction d'affouragement, destruction des viscères des animaux tués) (Hars *et al.*, 2003; Zanella *et al.*, 2008).

Selon les conditions écologiques locales, il semble que la place du sanglier dans l'épidémiologie de la tuberculose à *M. bovis* soit variable. En effet, dans certains cas, l'infection peut apparaître sporadiquement dans les populations de sangliers et persister en présence d'une autre source d'infection, comme les bovins en Italie (Serraino *et al.*, 1999), les « possums » (phalanger-renards) en Nouvelle-Zélande (Coleman and Cooke, 2001) et les cerfs en forêt de Brotonne (Zanella *et al.*, 2008). Dans d'autres cas, l'infection semble pouvoir se maintenir chez les sangliers en l'absence de bovins ou autres espèces infectés, comme récemment montré en Espagne (Vicente *et al.*, 2006; Naranjo *et al.*, 2008), où le sanglier est considéré comme un vrai réservoir de *M. bovis*.

La question de la constitution d'un réservoir sauvage de tuberculose²² et des circonstances de son apparition demeure une des points importants à éclairer pour pouvoir ensuite envisager les mesures de gestion de la maladie localement, tant d'un point de vue de la santé de l'élevage que publique.

II.3.2.3.c. La tuberculose bovine chez l'Homme

Actuellement, en Europe, la plupart des cas de tuberculose chez l'Homme sont dus à *M. tuberculosis* et sont liés à une transmission inter-humaine.

L'Homme est aussi sensible à la tuberculose bovine (O'Reilly and Daborn, 1995). Il se contamine par inhalation ou par consommation de lait (Wedlock *et al.*, 2002). L'infection peut aussi être transmise via des coupures ou des abrasions de la peau (Kaneene and Thoen, 2004).

Les symptômes, qui apparaissent des mois voire des années après l'infection, dépendent du mode de contamination (Benet, 2006). Lors d'inoculation transcutanée, un ou plusieurs nodules apparaissent accompagnés d'adénopathie de voisinage. Cette forme cutanée évolue généralement vers l'ulcération et reste rebelle au traitement. L'inhalation de *M. bovis* conduit à une forme pulmonaire semblable à la tuberculose à *Mycobacterium tuberculosis*. Dans ce cas, l'extension à d'autres organes est possible. L'ingestion de *M. bovis* entraîne une tuberculose extra-pulmonaire avec adénite cervicale, infections génito-urinaires, méningite, arthrites, ostéomyélite, adénite mésentérique, tubercules abdominaux. Par ailleurs, la bactérie peut aussi rester latente chez l'hôte, sans engendrer de maladie.

²² AFSSA – Saisine n° 2008-SA-0331 : Evaluation du risque relatif à la tuberculose de la faune sauvage en forêt de Brotonne. 17pp

La tuberculose bovine était considérée comme une zoonose majeure au 20^{ème} siècle. Mais, grâce à la pasteurisation du lait et la mise en place de programmes d'éradication (dépistage et abattage) de la maladie chez les bovins, cette maladie a nettement reculé (Phillips *et al.*, 2003). Actuellement, en Europe, les données sont insuffisantes pour dresser des conclusions quant au nombre de cas dus à *M. bovis* (EFSA, 2006). Cet état de fait est notamment à mettre en relation avec la variabilité qualitative des systèmes de surveillance de la tuberculose en Europe.

En France, en 1995, 0,5% des 7 075 cas de tuberculose bactériologiquement déclarés et confirmés étaient dus à *M. bovis*. A la fin des années 1990, l'incidence de la tuberculose à *M. bovis* en France était estimée à 0,07 pour 100 000 habitants (Robert *et al.*, 1999). Cependant la maladie reste un problème pour les populations à risque : éleveurs, agents d'abattoir, vétérinaires, et individus immunodéprimés (Phillips *et al.*, 2003; Kaneene and Thoen, 2004; de la Rua-Domenech, 2006; Wilkins *et al.*, 2009).

Le rôle exact des animaux sauvages dans l'infection chez l'Homme et les animaux domestiques reste encore méconnu. Cependant, dans les zones où la tuberculose est enzootique dans la faune sauvage, les chasseurs sont exposés à *M. bovis* par inoculation cutanée pendant le dépeçage ou consommation de venaison mal cuite (Wilkins *et al.*, 2003; Wilkins *et al.*, 2008), et l'infection de deux chasseurs a été confirmée en 2004 dans le Michigan, USA (OIE, 2004).

Parmi les maladies du sanglier transmissibles à l'Homme, la trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose bovine ont retenu particulièrement notre attention compte tenu de leurs conséquences majeures possibles en santé publique.

La transmission à l'Homme des agents pathogènes s'effectue majoritairement par contact direct, notamment lors de manipulation des carcasses ou de consommation de viande contaminée. Dans un contexte d'évaluation du risque zoonotique, le suivi épidémiologique de maladies du sanglier en lien avec les activités de chasse apparaît donc important à considérer.

II.4. Suivi épidémiologique des zoonoses chez le sanglier

Le suivi épidémiologique des zoonoses chez le sanglier a pour objectif d'estimer le risque zoonotique lié à cette espèce dans un objectif de prévention des maladies. Plusieurs types d'investigation peuvent être mis en place.

- L'épidémiosurveillance

L'épidémiosurveillance, consiste à décrire la situation sanitaire d'un territoire et/ou d'une population et son évolution vis-à-vis des maladies y sévissant afin d'évaluer les risques ou les résultats d'un plan de lutte. Elle peut donc se définir en théorie comme « une méthode d'observation fondée sur des enregistrements en continu permettant de suivre l'état de santé ou les facteurs de risque d'une population définie et déceler l'apparition de processus pathologiques et d'en étudier le développement dans le temps et l'espace en vue de l'adoption de mesures appropriées de lutte » (Dufour et Hendrikx, 2007).

L'épidémiosurveillance se situe donc toujours dans un contexte appliqué de gestion du risque, et d'organisation de « plan de lutte ». De plus la base de l'épidémiosurveillance est l'enregistrement de données en continu. Ces données pourront être collectées lors de surveillance passive, basée le plus souvent pour la faune sauvage sur le recueil d'animaux morts, ou bien active, lors d'investigations liées à un foyer ou encore lors de la conduite d'études particulières (Schlundt, 2002).

Le plus souvent, en pratique et contrairement à la définition générale théorique de l'épidémiosurveillance, les plans d'épidémiosurveillance active viseront en premier lieu à dépister la présence de l'agent pathogène chez l'animal et explorer l'ampleur géographique du portage. L'exploration plus fine de la structure spatiotemporelle et des mécanismes des maladies fera appel dans un second temps à l'analyse épidémiologique descriptive et analytique, qui étudie l'évolution des foyers et leur fonctionnement.

- Epidémiosurveillance des zoonoses chez le sanglier

Conformément à la directive européenne 92/45/CEE²³, le sanglier en tant qu'espèce de gibier sauvage, fait l'objet en France de deux types d'épidémiosurveillance réglementaire, l'une concernant la viande de gibier mise sur le marché et l'autre les populations de gibier sauvage.

²³ Directive 92/45/CEE du Conseil, du 16 juin 1992, concernant les problèmes sanitaires et de police sanitaire relatifs à la mise à mort du gibier sauvage et à la mise sur le marché de viandes de gibier sauvage.

La viande de sanglier n'est légalement commercialisable que pendant les périodes d'ouverture de la chasse de cette espèce (variables selon les années et les régions ; généralement du 15 août au 15 janvier pour l'aire d'étude considérée dans la seconde partie de cet ouvrage). Comme décrit au chapitre I.3., pour être commercialisée dans des circuits longs elle doit faire l'objet d'une marque de salubrité délivrée après inspection post mortem de la carcasse par un établissement agréé ; cette inspection incluant une recherche systématique de larves de trichinelles. Notons que les données d'inspection de sanglier sauvage commercialisé sont intégrées au plan national de surveillance (ci-après).

Du vivant de l'animal, des mesures de surveillance sanitaire, passive ou active, doivent être prises par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) (plan national de surveillance du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche).

- Epidémiosurveillance passive

En France, cette surveillance est assurée par le réseau SAGIR organisé par l'ONCFS en lien avec les Fédérations Départementales des Chasseurs, les laboratoires vétérinaires départementaux et l'AFSSA (Lamarque *et al.*, 2000). A partir d'animaux trouvés morts sur le terrain et analysés, ce réseau analyse les principales causes de mortalité de la faune sauvage. Il constitue un très bon système d'alerte en cas d'émergence d'une nouvelle pathologie à condition que la mortalité soit assez importante dans les populations sauvages. Par ailleurs, les principales zoonoses du sanglier sauvage provoquent en général très peu de symptômes ou de mortalités visibles (cf. P1-II.3, p. 38.). En conséquence, elles s'avèrent souvent difficiles à détecter. Hars et ses collaborateurs (2008) remarquent en effet que peu de sangliers sont collectés et autopsiés via le réseau SAGIR (à peine plus d'une centaine d'animaux par an en moyenne) et que les maladies infectieuses virales, bactériennes et parasitaires ne représentent au total que 15 % des causes de mortalité identifiées (Hars *et al.*, 2008) ; les intoxications et traumatismes représentant plus de 50% des causes de mortalité des animaux autopsiés.

- Epidémiosurveillance active des populations de sangliers

L'évaluation du statut sanitaire du sanglier sauvage vis-à-vis des maladies transmissibles et des zoonoses fait donc largement appel à une épidémiosurveillance active menée par l'ONCFS et la DGAI, en collaboration avec l'AFSSA, qui mènent des programmes nationaux de suivi sanitaire concernant surtout les maladies réglementées. En 2000-2004, un suivi sérologique national des populations françaises de sangliers a ainsi concerné la peste porcine classique, la maladie d'Aujeszky, la brucellose, la trichinellose (Hars *et al.*, 2007). Ce

type de programme permet de collecter un grand nombre de données sur tout le territoire, utile à l'estimation du risque infectieux ou parasitaire.

Par ailleurs, lors de foyers domestiques de maladies réglementées, une surveillance épidémiologique spécifique des populations de sangliers de la zone concernée peut être engagée par les services déconcentrés de l'Etat et l'ONCFS.

Dans ces deux types de surveillance active la collecte des prélèvements est faite sur des animaux tués à la chasse, requérant une logistique de terrain complexe et coûteuse, et faisant appel à la bonne volonté des chasseurs. Souvent ponctuelles, elles ne permettent généralement pas un suivi épidémiologique en continu ni la constitution d'un système de détection des maladies émergentes, contrairement aux systèmes de surveillance passive.

- L'épidémiologie

Focalisée sur une maladie non encore observée (nouvelle ou exotique), l'épidémiologie quant à elle comprend des actions de veille destinées à détecter l'apparition de cette maladie sur un territoire dans le but de déclencher une alerte. En France à partir de 2001, un plan d'épidémiologie de la peste porcine classique a par exemple été déclenché chez le sanglier sauvage sur les départements des Ardennes, du Bas-Rhin, de la Meurthe-et-Moselle, de la Meuse et de la Moselle, considérés comme départements à risque (Hars *et al.*, 2008). Des plans semblables concernent certains départements où des foyers de tuberculose à *M. bovis* et de brucellose sont observés dans des élevages.

Les travaux développés en seconde partie de cette thèse se situent dans un double objectif, celui de l'épidémiologie active des maladies zoonotiques liées au gibier en Corse et au développement de connaissances sur l'épidémiologie descriptive et analytique de ces maladies ; le second objectif permettant de fournir des clés au premier. Nous allons maintenant présenter la problématique de ces travaux dans un contexte méditerranéen insulaire, la Corse.

III. Le sanglier et les zoonoses en Corse : quelle problématique ?

III.1. La Corse

La Corse est une région française métropolitaine située en Mer Méditerranée. Plus proche de l'Italie que de la France continentale, elle est en effet distante d'environ 180 km de la Côte d'Azur alors qu'elle n'est qu'à 80 km des côtes toscanes et 15 km de la Sardaigne (Fig. 7). Avec une distance maximale Nord-Sud de 183 km et Est-Ouest de 83 km, elle a une superficie globale (8 680 km²) parmi les plus petites des régions françaises. En 2006, la population insulaire résidente était estimée à 294 118 habitants : avec une densité de 33 habitants/ km², elle est la 3^{ème} région la moins dense de France métropolitaine, après le Limousin (43 habitants/ km²) et l'Auvergne ou la Bourgogne (51 habitants/ km²) (source : INSEE).



Figure 7 : La Corse, une île en Méditerranée (source : Google – Données cartographiques 2009 © Basarsoft, Tele Atlas, AND).

Les travaux développés en seconde partie de cette thèse s'inscrivent dans le cadre d'un programme financé par l'Agence Nationale de la Recherche. Le choix géographique de la Corse pour mener ce programme, dénommé *Bioscope - Observation du Vivant en méditerranée* (Programme ANR), a été notamment motivé par le fait que cette région est une île ; le facteur insulaire présentant certaines caractéristiques d'intérêt.

Tout d'abord, pour les scientifiques du programme Bioscope, l'observation y est considérée plus aisée du fait que « la population (humaine résidente) est plus stable, les

médecins libéraux et hospitaliers y sont plus facilement identifiables et l'environnement animal et végétal est plus homogène et mieux circonscrit. »

Remarquons toutefois que, du fait de l'attrait touristique de l'île, la taille de la population insulaire est très élargie l'été par l'arrivée massive de vacanciers français et italiens, mais aussi allemands, hollandais, espagnols, européens de l'Est, *etc.*. Cette réalité peut être majeure à considérer en termes d'importation d'agents pathogènes.

Par ailleurs, du fait de sa place en Méditerranée, « l'île de Corse constitue une zone de passage et est envisagée comme un axe potentiel de pénétration de vecteurs infectieux du Sud vers le Nord ». Les caractéristiques climatiques méditerranéennes de l'île sont d'ailleurs favorables à la survie de certains vecteurs hématophages, comme celui de la Bluetongue (Biteau-Coroller, 2006), et pourraient être propices à l'installation de nouveaux vecteurs.

Finalement, les scientifiques du programme Bioscope proposent que « la Corse par son niveau de développement élevé, sa population stable en hiver mais massivement élargie chaque été, sa place unique en Méditerranée, et ses infrastructures en font un terrain idéal pour la mise en place d'un projet d'observation épidémiologique ».

III.2. Une population mixte de suidés sauvages insulaires

En fonction des aires du globe considérées, les suidés sauvages peuvent être des sangliers indigènes (wild boar) ou bien des cochons marron (feral pigs) ou sauvages (wild pig), expliquant qu'un certain débat sémantique anime parfois les discussions (Randi, 1995).

En Corse cette confusion est d'autant plus présente que la diversité phénotypique, et très probablement génétique, de la population insulaire de suidés sauvages est grande.

- Origine du sanglier en Corse

Concernant l'origine du sanglier corse, *U cignale*, deux hypothèses sont émises :

- l'hypothèse du marronnage, déjà émise pour le mouflon (*Ovis ammon musimon*) (Poplin, 1979), qui considère les porcs domestiques importés lors du peuplement de l'île comme les ancêtres de l'actuelle forme sauvage du sanglier corse (*Sus scrofa* L.) (Vigne, 1992). Sous cette hypothèse, l'origine des sangliers corses serait donc des porcs marron, ensauvagés probablement au début de la domestication, il y a environ 4 000 ans.

- l'hypothèse d'un peuplement original, peut-être au pléistocène (Franceschi, 1984). Sous cette hypothèse, le sanglier corse est alors décrit comme appartenant à la sous-espèce

méditerranéenne, *S. s. meridionalis* (Groves, 1981 in Randi, 1995), à laquelle appartiennent aussi les suidés sauvages de Sardaigne.

Notons bien que sous les deux hypothèses, la forme sauvage du sanglier corse actuel et les porcs marron issus de porc d'élevage actuel (voir ci-après) sont dans tous les cas d'origine différente.

Par ailleurs d'un point de vue génétique le sanglier corse a la particularité de présenter un caryotype à $2n = 38$ chromosomes, similaire à celui du Porc (*Sus scrofa domesticus*), ce qui le singularise des autres sangliers d'Europe Occidentale à $2n = 36$ chromosomes (Franceschi, 1980).

En taxonomie, la sous-espèce *Sus scrofa meridionalis* est toutefois considérée comme plus proche génétiquement du sanglier sauvage que du porc domestique (Fig. 8).

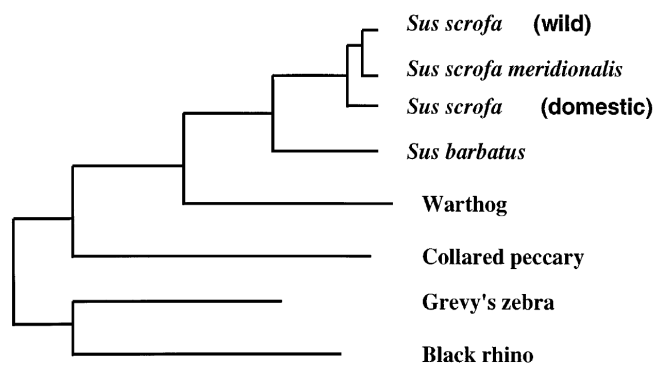


Figure 8 : Proximité phylogénétique au sein des suiformes, sur la base de l'analyse des séquences de gènes d'ADN du cytochrome b mitochondrial, extrait de Randi (1995).

Le phénotype sauvage du sanglier corse présente le plus souvent une livrée entièrement noire ou rousse et non le classique phénotype sauvage agouti du sanglier décrit ailleurs en Europe. Les autres différences physiques sensibles entre le sanglier européen continental et sanglier insulaire apparaissent notamment au niveau de la masse et de la morphologie. La masse des mâles de 3 à 7 ans peut varier de 35 à 80 kg (Franceschi, 1984). Globalement, le sanglier insulaire est de format plus réduit, et de fait bien adapté à l'utilisation du maquis. Avec la forêt mixte et la chênaie, le maquis est d'ailleurs l'habitat principal du sanglier en milieu méditerranéen (Abaigar *et al.*, 1994; PNRC, 1995).

- Situation actuelle

La situation actuelle concernant la population de suidés sauvages en Corse est d'un point de vue phénotypique et génétique beaucoup plus floue.

En effet, une proportion de la population sauvage est composée d'individus issus d'hybridation entre animaux sauvages et porcs domestiques actuels, élevés en libre parcours

(voir chapitre III.4). La part de la population composée de ces individus hybrides (ci-après dénommés « croisés », terme utilisé en Corse) n'est pas chiffrée aujourd'hui. Mais en 1983, selon les régions, jusqu'à 55% des animaux étaient considérés comme métissés. Actuellement, d'un point de vue phénotypique, et de l'avis même des chasseurs, les croisés sont toujours nombreux même si difficilement reconnaissables.

Sur le plan morphologique, le poids des animaux croisés peut atteindre, voire dépasser, les 120 kg. Par ailleurs les croisés se caractérisent par une prolificité plus grande, notamment grâce à une taille de portée supérieure (6-7 marcassins contre 2-5 chez le sanglier corse) (Franceschi, 1984). En admettant la poursuite des croisements, la disparition du sanglier corse *sensu stricto* serait donc à craindre.

Une autre proportion de la population sauvage est composée de cochons marron, c'est-à-dire d'animaux nés en élevage mais n'étant plus sous le contrôle d'un éleveur. De la même manière, la proportion de la population composée d'individus marron n'est pas estimée. Elle est toutefois plus ou moins importante selon les micro-régions de l'île, en fonction de la densité de porcs et de l'organisation de l'élevage (Maestrini, *com. pers.*). Dans tous les cas, elle n'est réellement objectivable que par des critères moléculaires (Mayer *et al.*, 1998). Notons ici que le porc de race corse (*U porcu neru*) possède un phénotype assez proche d'un phénotype sauvage, comparativement à celui des porcs d'autres races continentales (Large white, Land race etc.), ce qui peut induire une confusion supplémentaire.

Enfin dans le courant des années 1960-1970, dans un but cynégétique, quelques sangliers provenant des Ardennes ont été très localement introduits sur l'île. Le devenir de ces individus et leur impact sur la population restent inconnus. Certains chasseurs considèrent toutefois que, lorsque le poids d'un individu chassé de phénotype sauvage dépasse 90 kg, ils sont en présence d'animaux introduits (PNRC, 1995).

Malgré l'absence d'estimation quantitative chiffrée de ces différentes sous-populations de suidés insulaires vivant à l'état sauvage (sanglier corse, individus croisés, individus marron), il apparaît que ce mélange a conduit à une grande variabilité morphologique et phénotypique. D'un point de vue taxonomique, le terme de « sanglier », au sens strict, est probablement impropre pour caractériser aujourd'hui un suidé sauvage en Corse, les animaux actuellement insulaires n'étant pas tous des représentants de la population sauvage d'origine. Cependant pour la clarté du discours nous prenons le parti dans la suite de cet ouvrage de qualifier de « sanglier » (wild boar) en Corse tout suidé vivant à l'état sauvage et chassé sur l'île.

III.3. La chasse au sanglier : une tradition majeure en Corse toujours d'actualité

La Corse est une région connue pour conférer à la chasse, *U caccia* en langue corse, et plus particulièrement à la chasse au sanglier, une importance considérable. Des études à caractère ethnologique ont éclairé les enjeux culturels que recouvre la chasse au sanglier avec l'organisation communautaire des battues, le choix et le dressage de chiens courants, ainsi que les phénomènes identitaires qu'elle porte (PNRC, 1995). Sans oublier les questions de représentation des chasseurs dans le paysage rural corse (Dalla Bernardina, 2009), les enjeux notamment financiers représentés par le braconnage, les affichages des sociétés locales vis-à-vis des Fédérations départementales et de ces dernières vis-à-vis des Fédérations régionale et nationale.

- Organisation de la chasse

Chaque année, on estime que plus de 20 000 sangliers sont abattus lors des campagnes annuelles de chasse dans les 2 départements de Corse, la Haute-Corse et la Corse du Sud (Saint-Andrieux and Barboiron, 2009). Les dates d'ouverture et de fermeture peuvent être différentes d'une année à l'autre, et d'un département à l'autre (variations possibles de quelques semaines), mais généralement une campagne de chasse se déroule de la mi-août à fin janvier.

Le nombre de prélèvements officiels en Corse est annuellement estimé à partir des rendus des carnets de battue et de contacts auprès des chefs de battue. Comme sur le continent, les effectifs chassés sur l'île ont fortement augmenté (Klein *et al.*, 2007) : ils sont passés de 10 000 sangliers il y a 20 ans (Pietri, 1986) à plus de 20 000 sangliers actuellement tués à la chasse chaque année. Malgré l'estimateur grossier qu'est le tableau de chasse, qui n'intègre évidemment pas les bêtes tuées par le braconnage qui en Corse se compteraient en milliers (Pietri, 1986), il demeure le seul indicateur de la taille de population. Les études récentes tendraient à montrer que les individus chassés représenteraient près de la moitié de la population globale (Hars, com. Pers.). Aussi, nous pouvons penser que dans certaines régions de l'île les densités de sangliers pourraient dépasser les 10 sangliers/ km².

Les prélèvements de chasse sont variables d'une zone à l'autre (Annexe 2) et en partie conditionnés par la densité de gibier mais aussi la pression de chasse locale, elle-même fonction du nombre de chasseurs mais aussi leur organisation. Ainsi les 17 000 chasseurs officiellement dénombrés sur l'île (nombre de timbres individuels de chasse délivrés par les

FDC) ne dépendent pas tous d'une association communale de chasse agréée (ACCA), cette structuration n'étant pas généralisée à l'ensemble du territoire insulaire (209 ACCA pour 360).

- Consommation de la viande de sanglier

Une fois le sanglier abattu et dépouillé, les portions de viande sont réparties entre les membres de la battue et suivent un circuit de cession court (réseaux familiaux ou amicaux), sans contrôle sanitaire (cf. P1-I.3.2, p.24). Les portions peuvent être placées dans un congélateur à usage domestique de façon à en différer la préparation. Cette pratique peut permettre d'assainir la viande, mais, certains dangers zoonotiques sont cryo-résistants (cf. P1-I.3, p.23).

En Corse, la circulation des viandes peut aussi intéresser des restaurateurs qui localement mettent à leur carte des plats à base de viande de sanglier. Ce type de cession des viandes ne bénéficie pas de contrôle sanitaire.

De manière traditionnelle, le mode de préparation est la cuisson lente en sauce de façon à obtenir un ragout (ou daube), la cuisson pouvant être précédée d'une phase où la viande est mise à mariner dans du vin ou d'autres alcools (Casabianca, 1996). Plus récemment, on observe que des cuissons rapides de type grillade et barbecue, ne permettant généralement pas une inactivation à cœur des dangers zoonotiques, sont pratiquées, notamment sur les lieux mêmes de la chasse. Dans une perspective d'estimation du risque zoonotique, la place de cette pratique dans la consommation de viande de sanglier serait à étudier.

En Corse, la commercialisation de la viande de sanglier sans contrôle sanitaire et les modes de cuisson des viandes qui évoluent posent des questions en matière de santé publique et intéressent particulièrement le propos de cet ouvrage.

III.4. Des interactions très fortes avec les animaux d'élevage

- Mode d'élevage en Corse

L'élevage d'animaux domestiques en Corse présente des caractéristiques extensives qui le distinguent de l'élevage intensif très largement représenté en France et en Europe. A

l'exception de quelques élevages de Corse-du-Sud notamment, le système d'élevage régional, pour sa plus grande part, repose sur l'utilisation d'un territoire montagnard par des animaux de race locale – vache corse, chèvre et brebis corses, porc corse – ou individus croisés, rustiques et particulièrement bien adaptés au milieu méditerranéen, dominé par le chêne vert et le maquis. En 2005, les données du recensement agricole faisaient état de 74 000 bovins, 37 000 porcs, 48 000 chèvres et 149 000 moutons (source : AGRESTE²⁴). Les parcours libres constituent une particularité importante de l'élevage en Corse et ce mode d'élevage implique que les interactions entre les animaux de rente et la faune sauvage sont potentiellement très fortes.

Concernant la filière porcine en particulier, environ 400 élevages porcins sont répertoriés sur l'île ; 280 exploitations étant déclarées à titre principal (source : AGRESTE) et 10% des éleveurs fédérés en syndicat ou en association régionale, comme l'Association de Gestion de la Race Porcine Corse (AGRPC composée d'environ 25 éleveurs).

Le cycle d'élevage est basé sur l'utilisation de ressources présentes dans les espaces naturels, et plus particulièrement les chênaies et les châtaigneraies (Lambert-Derkimba, 2007). De mai à septembre les porcs transhument en montagne où ils trouvent nourriture et conditions de vie favorables pour passer la période des fortes chaleurs.

- Modalités d'abattage

Contrairement aux porcs élevés sur le continent, qui sont abattus à un poids donné (généralement autour de 100 kg), les porcs en Corse sont abattus à une période donnée, généralement entre 15 novembre et le 15 avril. Cette période d'abattage est déterminée par la dernière phase du cycle d'élevage, celle de l'engraissement sur des parcours en forêt, les porcs se nourrissant alors essentiellement de glands et de châtaignes, conférant à la viande un gras très particulier. Ce gras est une composante essentielle dans la qualité des produits qui en sont issus, charcuterie à typicité très locale.

Traditionnellement, l'abattage en Corse était de type « fermier », les animaux étant abattus et découpés sur la ferme. Cependant, suite à des récentes crises sanitaires, la législation alimentaire européenne a été profondément remaniée, et, depuis 2005, tout porc élevé en plein-air doit faire l'objet d'un abattage en établissement agréé, et doit être soumis à une recherche systématique de larves de trichine. En Corse-du-Sud, des abattoirs spécialisés

²⁴ <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>

ont été ouverts à Bastelica et à Sartène, ou la chaîne d'abattage adaptée, pour l'abattoir de Cuttoli. En Haute-Corse, un abattoir spécialisé a été construit à Ponte-Leccia (Fig. 9). Cependant, encore aujourd'hui, cet abattage officiel ne représente qu'à peine la moitié de l'effectif de porcs abattus sur l'île (4 574 en 2007, sur 12 000 porcs déclarés ; source : Services Vétérinaires, DGAL), et, dans certaines micro-régions, l'abattage officiel est largement sous-représenté (Fig. 9) (Richomme *et al.*, 2007). La part de l'effectif abattu hors abattoir ne bénéficie d'aucun contrôle sanitaire, que ce soit au regard des maladies réglementées à impact économique en élevage que des maladies zoonotiques.

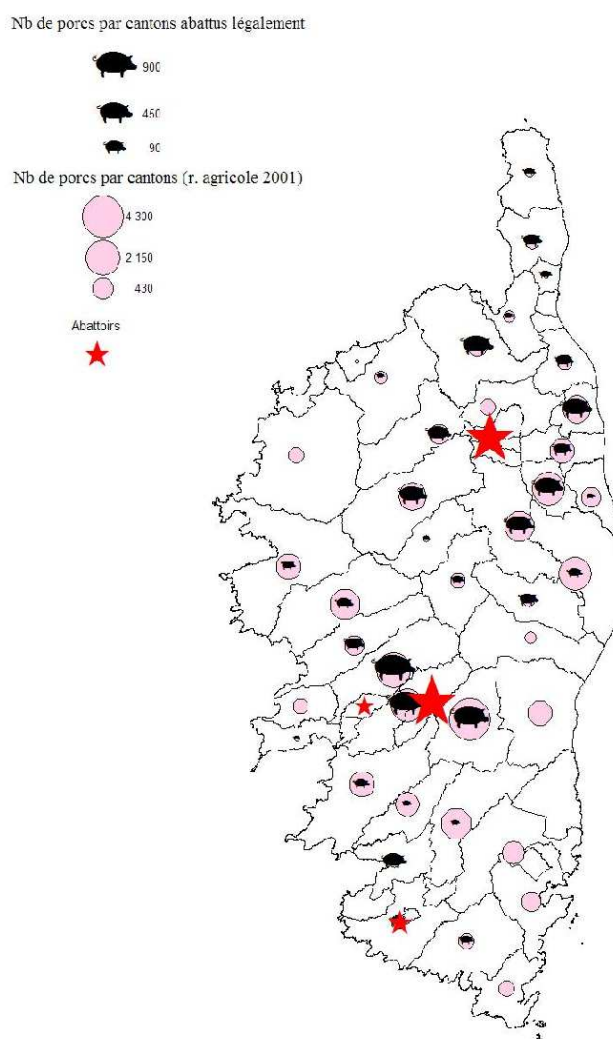


Figure 9 : Elevage et abattage officiel de porcs en Corse en 2007 : nombre de porcs déclarés par canton (ronds roses) et nombre de porcs abattus légalement (cochons noirs) dans un des 4 abattoirs de l'île (étoile rouge) (source : Agreste et services vétérinaires de Corse).

Ce constat concernant l'abattage encore majoritairement « fermier », sans contrôle sanitaire, est une réalité aussi concernant les autres espèces d'élevage, notamment dû à un

déficit de capacité d'abattage sur l'île. Aussi, afin de répondre ainsi aux obligations sanitaires et permettre le développement des filières amont et aval, le plan exceptionnel d'investissement (PEI) pour la Corse²⁵ prévoit d'ici 2017 « la mise aux normes des abattoirs existants et la création d'abattoirs répartis sur le territoire en fonction de la localisation des productions afin de satisfaire aux besoins exprimés par les éleveurs de Haute-Corse et de Corse du Sud pour l'abattage et la commercialisation des viandes bovines, porcines et ovines ».

Dans un contexte où le système de contrôle des maladies en élevage est relativement peu efficace, une meilleure connaissance des pathogènes circulant dans la faune sauvage peut s'avérer très utile, notamment pour mesurer le risque zoonotique.

III.5. Problématique de l'étude en Corse

Au cours de la partie introductive de notre thèse nous avons dans un premier temps détaillé la notion de risque zoonotique et les conditions de son analyse concernant le gibier, notamment en lien avec la réglementation sanitaire, afin de situer le contexte général de notre travail.

Nous avons montré dans un second temps en quoi le Sanglier est un modèle biologique intéressant dans l'étude du risque zoonotique lié au gibier sauvage : certaines caractéristiques de la biologie sont propices à la circulation intra-spécifique d'agents pathogènes ; de plus cette espèce très chassée peut être source de multiples agents pathogènes pour l'Homme. La trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose, de par leur implication potentiellement majeure en santé publique, ont notamment retenu notre attention.

Ensuite, concernant la Corse, nous avons décrit le fait que le contrôle sanitaire des carcasses d'animaux domestiques fait défaut dans une majorité de situations. Compte tenu du caractère extensif de l'élevage, il est de plus à craindre que les mesures de contrôle et de prévention des maladies en élevage soient moins bien appliquées qu'en élevage intensif. Ces caractéristiques engagent donc notre étude dans un contexte sanitaire insulaire probablement sous-contrôlé. Or, compte tenu de l'utilisation d'un même espace et des mêmes ressources, les interactions écologiques spatio-temporelles entre sangliers et animaux d'élevage, notamment

²⁵ Plan exceptionnel d'investissement pour la Corse <http://www.pei-corse.org>

le porc, sont fréquentes. L'observation de croisements entre suidés domestiques et sauvages renforce ce patron de contacts étroits.

Enfin, la viande de sanglier est commercialisée sans contrôle sanitaire et les modes de préparation des viandes tendent à évoluer vers une moindre cuisson à cœur.

Aussi la problématique des zoonoses liées au Sanglier apparaît comme pertinente en matière de santé publique, tout particulièrement en Corse. Sur le plan de l'épidémiologie, l'objectif de notre travail a donc été d'essayer d'éclairer cette question en caractérisant trois des dangers zoonotiques majeurs liés au Sanglier en Corse : la trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose à *M. bovis*.

Compte tenu de l'absence de structure organisée d'épidémiosurveillance animale à l'échelle de la région insulaire, le premier temps de notre travail a été de construire et de coordonner un réseau d'acteurs locaux et institutionnels afin d'organiser la collecte et l'analyse de prélèvements.

Ensuite, concernant la trichinellose et la toxoplasmose, nous avons étudié les fréquences d'infection et mené une analyse descriptive des données. Lorsque c'était possible, nous avons recherché les facteurs permettant de mieux comprendre l'exposition du sanglier aux parasites.

Concernant la tuberculose, notre travail a consisté à faire l'état de la situation et de poser les questions concernant le risque lié aux interactions entre faune domestique et faune sauvage.

Enfin, concernant la toxoplasmose et la tuberculose, un travail d'épidémiologie moléculaire a été réalisé afin de caractériser les souches présentes sur l'île et essayer de comprendre les liens entre cycles domestique et sauvage des deux maladies.

L'objectif appliqué de ce travail était d'améliorer l'épidémiosurveillance de la faune sauvage en Corse afin de fournir des clés aux gestionnaires du risque et aux acteurs locaux pour une meilleure prise en compte et prévention du risque zoonotique lié à la faune sauvage sur l'île, ainsi que d'orienter les futurs travaux dans ce domaine.

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE
ZONOSSES DU SANGLIER EN CORSE**

I. Cadre scientifique et dispositif de l'étude

I.1. « BioScope », un programme d'observation du vivant en Méditerranée

I.1.1. Objet et objectifs du programme Bioscope

Les travaux développés dans notre thèse s'inscrivent dans le cadre d'un programme financé par l'Agence Nationale de la Recherche, le programme *BioScope - Observation du Vivant en méditerranée* (Programme ANR 05 SEST 048-02). Ce programme, était coordonné par l'INSERM²⁶, l'AFSSA²⁷, l'INRA²⁸ et le CIRAD²⁹ en collaboration avec la Station Biologique de la Tour du Valat, l'Unité de Génétique Moléculaire des Virus Respiratoires de l'Institut Pasteur, l'équipe Evolution des Systèmes Symbiotiques de l'Institut de Recherche pour le Développement, le centre de recherche Avifaune Migratrice de l'ONCFS et l'équipe Eco-Evolution Mathématique de l'UMR 7625 Université Pierre et Marie Curie – CNRS.

L'objet général était de mettre en place « un observatoire du Vivant, centré sur la Corse à vocation Méditerranéenne, associant un consortium d'acteurs dans le domaine de l'épidémiologie des maladies transmissibles et la biologie de l'homme et l'animal ». Devant la mondialisation des problèmes infectieux et le besoin des décideurs publics et gestionnaires locaux (financiers, politiques et juridiques) d'être informés sur les causes de maladies et leurs évolutions possibles, les acteurs pilotes du programme proposaient de constituer un réseau régional d'expertise, de recueil de données par maladie, de renforcer les capacités du territoire à travailler en réseau (échanges d'informations épidémiologiques, développement d'outils communs d'analyse), d'assurer la formation des personnels et au final rendre fonctionnels les systèmes, déjà en place, face aux crises épidémiologiques.

Les objectifs scientifiques du programme étaient alors de constituer une base de données épidémiologiques et un observatoire utile à la veille et l'alerte épidémiologique précoce, d'approfondir les connaissances épidémiologiques et de compléter la constitution de banques de données virologiques et sérologiques, de développer un lien structurel entre l'approche sentinelle dans le domaine médical et le domaine vétérinaire.

²⁶ Institut National de la Santé et la Recherche Médicale

²⁷ Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

²⁸ Institut National de Recherche Agronomique

²⁹ Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

Le programme reposait sur la mise en place, à l'échelle de tout le territoire de Corse, d'infrastructures régionales d'observation, appelées rampes. Une première infrastructure serait ainsi dédiée à l'observation de la santé humaine, la rampe EpiDEM, et une seconde à l'observation de la santé animale, la rampe EpiZOO ; ces deux rampes étant conçues sur un modèle de réseau Sentinelles. Notre travail de thèse s'inscrit dans les objectifs de cette seconde rampe (cf. P2-I.1.2, p.80).

En parallèle, une extension vers la Méditerranée était prévue, en particulier dans le cadre de l'observation des migrations aviaires, et reposait sur une rampe expérimentale basée en Camargue, la rampe MiGrAV.

En plus de ces rampes d'observation, des « sondes » d'exploration du vivant, se nourrissant des données d'observation et conçues pour tester ou valider des théories sur les dynamiques épidémiques, faisaient également partie du projet BioScope : la sonde « EvolEmerg » sur les théories de l'évolution des agents pathogènes, la sonde « Colvert » sur les interactions multi-espèces, incluant l'homme, dans les dynamiques grippales, et la sonde « ComPris », en sciences sociales, sur la perception et la communication sur les risques.

Enfin, le programme reposait sur cinq laboratoires de référence dans le domaine de la virologie de la grippe (les deux centres nationaux de référence et le laboratoire de l'AFSSA), des trichines (UMR INRA-ENVA-AFSSA) et de la Blue tongue.

I.1.2. Objectifs de la rampe EpiZOO et implication de la thèse

- Objectifs initiaux de la rampe EpiZOO

Le programme BioScope, via sa rampe EpiZOO, prévoyait un ensemble de travaux d'épidémiologie animale destinés à analyser les caractéristiques épidémiologiques de maladies zoonotiques en Corse : approfondissement des connaissances sur leurs cycles épidémiologiques, l'évolution dans le temps et l'espace de leur incidence/prévalence, les réservoirs et vecteurs potentiels impliqués et leurs distributions spatiale et saisonnière.

Ces travaux devaient permettre d'une part de répondre aux questions concrètes relatives aux zoonoses et maladies dont l'étude était envisagée (trichinellose, grippe animale, fièvre catarrhale ovine), et d'autre part d'acquérir une connaissance du milieu insulaire corse et de développer des outils permettant le cas échéant de mettre en œuvre rapidement des travaux complémentaires en cas d'apparition de maladies émergentes sur le territoire corse.

- Travaux engagés et implications de la thèse

Compte tenu du budget finalement alloué par l'ANR (moindre que le budget initialement demandé), les objectifs de la rampe EpiZOO ont finalement été restreints aux deux objectifs suivants :

- organiser la surveillance et étudier chez l'animal, notamment sauvage, la trichinellose et les virus *Influenza*,
- établir les bases d'un réseau permettant de développer différents travaux de recherche répondant à l'objet du programme Bioscope.

Aussi ce travail prévoyait en premier lieu (1) l'organisation d'un réseau régional de correspondants locaux, (2) l'organisation d'une étude épidémiologique de la trichinellose dans la faune sauvage sur tout le territoire de Corse (voir motivations de l'étude dans le chapitre II de cette partie), et (3) l'étude de la faisabilité, puis la planification éventuelle, d'un échantillonnage de surveillance des virus *Influenza* dans les populations d'oiseaux, de porcs et de sangliers.

Les conclusions de la pré-étude que nous avons menée concernant ce troisième point ont conduit à ne pas poursuivre les investigations concernant l'*Influenza* chez les oiseaux sauvages (faible effectif et moindre sensibilité au virus des espèces présentes en Corse, infaisabilité technique et contraintes réglementaires) et chez les sangliers (étude similaire en Camargue montrant une prévalence virale quasi nulle chez cette espèce alors que la faune aviaire migratrice est importante ; de plus, impossibilité de traitement des échantillons par le CNR grippe).

Concernant les virus grippaux chez les porcs, un premier échantillonnage en abattoir a été mené, avec l'aide du Groupement de Défense Sanitaire (GDS) de Corse, et a permis d'isoler des virus dont l'analyse et la mise en rapport des résultats avec ceux du suivi de la grippe saisonnière chez l'Homme (rampe EpiDEM) est en cours (Falchi *et al.*, 2008; Falchi *et al.*, 2009). N'intéressant pas directement le sujet de notre thèse, ces travaux chez le Porc ne seront pas davantage présentés.

Focalisée sur les zoonoses liées au gibier, notre travail de thèse concernait donc plus particulièrement la structuration d'un réseau de personnes et d'organismes permettant d'assurer l'étude et la surveillance épidémiologique active des zoonoses de la faune sauvage en Corse. Le chapitre qui suit présente en détail l'organisation de ce réseau d'épidémiosurveillance active.

Concernant les agents zoonotiques étudiés, notre travail a tout d'abord été orienté sur la question de la trichinellose en Corse, objectif explicite du programme (cf. ci-dessus). Les motivations expliquant le choix de cet agent pathogène sont développées dans le chapitre II. Par la suite, compte tenu des questions liant faune sauvage et toxoplasmose (cf. P1-II.3.2.2, p.51) et la possibilité de pouvoir tenter d'éclairer certaines de ces questions en Corse, nous avons fait le choix de développer des travaux sur cette maladie. Enfin, répondant à une certaine attente des acteurs locaux et à la découverte de cas chez des sangliers au cours de notre étude (cf. P2- IV, p.141), la tuberculose à *M. bovis* a aussi intéressé notre travail.

I.2. Le dispositif d'étude : un réseau régional d'épidémiosurveillance active de zoonoses dans la faune sauvage en Corse

I.2.1. Réflexion préalable

En juillet 2006, la première étape de notre travail a été de réfléchir à l'organisation d'un réseau d'épidémiosurveillance active de zoonoses liées à la faune sauvage en Corse. Cette réflexion initiale, préalable à l'organisation et au fonctionnement du réseau, a intéressé les aspects suivants :

- Identification des agents zoonotiques et espèces hôtes à étudier, questions épidémiologiques à éclairer et méthodologies à développer : les animaux sauvages présents en Corse et hôtes de l'agent zoonotique prioritairement visée par nos travaux, l'agent responsable de la trichinellose, étaient les sangliers et les renards. Les questions et méthodologies mises en place concernant le suivi de cette zoonose sont présentées dans le chapitre II de cette seconde partie.
- Synthèse des informations existantes et celles devant être recueillies, identification du type d'échantillons biologiques à collecter et du plan d'échantillonnage à bâtir (cf. P2-II.1.2, p.91) ; conception d'une fiche d'accompagnement des prélèvements pour l'explication de l'échantillon à prélever et le recueil des commémoratifs liés à l'animal et le lieu de prélèvement
- Identification des acteurs à impliquer dans le réseau, en fonction de leur(s) rôle(s) dans le système insulaire.

I.2.2. Mobilisation des acteurs locaux

L'action suivante a été de sensibiliser et de solliciter les acteurs locaux, institutionnels ou de terrain, identifiés comme jouant un rôle dans la gestion sanitaire animale ou la gestion des animaux sauvages et devant être intégrés au projet.

En fonction des rôles des différents acteurs dans le contexte insulaire et de leur fonction envisagée dans le réseau, l'objectif de cette étape de mobilisation pouvait être soit de mettre en place avec ces acteurs une collaboration étroite, durable tout au long de la conduite du projet en réseau, soit de les sensibiliser et d'obtenir leur soutien au projet (relais d'information) ou appui réglementaire, en vue notamment de développer au sein du réseau des travaux complémentaires.

Le tableau 8 présente les différents acteurs, les fonctions envisagées au sein du réseau et les actions de mobilisation que nous avons mises en œuvre. Les acteurs sont ici présentés de manière cloisonnée, un acteur, ou groupe d'acteurs, ayant une (ou des) fonction(s). En réalité, un acteur est un individu, et cet individu peut avoir une ou plusieurs « casquettes », intervenir à différents niveaux d'acteurs. Par exemple ici, le cas n'était pas rare qu'un lieutenant de louveterie, aussi appelé louvetier, était par ailleurs président d'association de chasse, chef de battue ou encore administrateur de fédération départementale de chasse. De la même manière, nombre d'éleveurs porcins ou encore agents de l'ONCFS, techniciens du GDS, sont aussi chasseurs aux sangliers, voire chefs de battue.

Par ailleurs, des collaborations ou relations étroites, professionnelles ou amicales, préexistaient entre différents acteurs bien avant la constitution du réseau d'épidémiosurveillance présenté ici. Par exemple, en Haute-Corse, la FDC2B et la DDSV2B avaient déjà collaboré en 2003-2004 à la mise en œuvre d'une enquête sérologique chez le sanglier. Autre exemple de collaboration professionnelle : en Haute-Corse le chef de la section départementale de l'ONCFS et celui du service environnement et forêt de la DDAF étaient en collaboration régulière pour la gestion de dossiers de contentieux par exemple (braconnage notamment). Dans la région de Sartène (Corse-du-Sud) le technicien de la FDC2A et le technicien d'abattoir étaient en bonne amitié. Ces aspects peuvent paraître anecdotiques. Or, d'en avoir connaissance permet d'adapter l'organisation du réseau à l'échelle très locale, et conditionne même parfois le succès de mobilisation des acteurs, en facilitant notamment la mise en relation. Aussi, le fait d'avoir été intégrée à l'équipe INRA du Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Élevage (LRDE), basé à Corte, a été particulièrement précieux car nous avons pu bénéficier de la part des collègues locaux d'une excellente connaissance du système humain insulaire et des réseaux d'influence existants.

Deuxième partie : étude épidémiologique de zoonoses du sanglier en Corse

Table 8 : Acteurs mobilisés en Corse dans le cadre du réseau d'épidémiosurveillance active de zoonoses, notamment de la trichinellose ; fonction envisagée au sein du réseau et actions de mobilisation mises en œuvre.

Acteurs (ou groupe d'acteurs)	Fonction envisagée dans le réseau	Actions de mobilisation
Direction Départementale des Services Vétérinaires (DDSV) ¹ de Corse-du-Sud (2A) et de Haute-Corse (2B)	Collaboration à l'élaboration et la conduite du réseau. Maitre d'œuvre financier des analyses trichines. Soutien logistique à la collecte des prélèvements de sangliers et de renards via les abattoirs Gestionnaire du risque en cas positif	Réunions avec les directeurs, coordinateur régional et responsables santé animale et hygiène alimentaire Etablissement d'une convention de partenariat
Laboratoires Départementaux d'Analyses Vétérinaires (LDAV) 2A et 2B	Maitre d'œuvre pour les analyses biologiques (recherche directe de larves de trichines notamment). Stockage des prélèvements et acheminement vers les LNR AFSSA	Rencontres avec les directeurs de laboratoires et chefs de service Etablissement d'une convention de partenariat
Fédérations Départementales de Chasse (FDC) 2A et 2B	Soutien au projet, relais d'information, sensibilisation et mobilisation des chefs de battue, notamment lors de la remise des carnets de battue, et si possible, soutien logistique pour la collecte des prélèvements Collaboration pour un développement durable de la surveillance des zoonoses	Rencontres des présidents départementaux et techniciens Réunions de travail
Associations Communales de Chasse Agréées (ACCA)	Relais d'information, sensibilisation et mobilisation des chefs de battue	Courriers d'information et d'invitation aux réunions de lancement envoyés à 200 ACCA
Chefs de battue	Prélèvements sur sangliers et tir de renards pendant les battues au sanglier	Articles de presse dans le quotidien local (Corse matin) et intervention radiophonique (Radio France Frequenza Mora) invitant les chefs de battue aux réunions de lancement du programme Contacts téléphoniques et plus de 50 interventions sur les battues, dans toutes les micro-régions de Corse, et lors d'assemblée générale d'ACCA.
Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS)	Soutien au projet, notamment auprès des DDAF, pour l'obtention d'autorisation de tir de renards, et des FDC ; relais d'information, aval pour le soutien logistique des agents (collecte de prélèvement, tir de nuits de renard)	Rencontre avec le directeur régional adjoint, les chefs de sections départementales et de la Brigade Mobile d'Intervention
Lieutenants de louveterie	Echantillonnage de renards (piégeage, tir de nuits)	Intervention lors de l'assemblée générale et rencontres sur le terrain
Direction Départementale de l'Agriculture et des Forêts (DDAF) / Préfet	En tant que tutelle de rattachement des lieutenants de louveterie, obtention d'autorisation de tir de nuit et piégeage exceptionnelle (sur ordre du préfet) ; relais d'information (via le site internet de la DDAF2B : mise en ligne d'informations sur le programme)	E-mail, contacts téléphoniques, rencontres, courriers avec copie au préfet
Syndicat AOC Charcuterie Corse et Association Régionale de Gestion de la Race Porcine Corse (ARGRPC)	Sensibilisation des éleveurs porcins (bien souvent aussi chasseurs) à la problématique "trichinellose"	Contact avec le président et l'animateur du Syndicat AOC et le président et l'animateur de l'ARGRPC
Groupement de Défense Sanitaire (GDS)	Soutien au projet, relais d'information auprès des éleveurs de porcs	Rencontres avec la directrice régionale et les techniciens départementaux
Vétérinaires libéraux	Informations des chasseurs, relais dans la collecte de prélèvements	Courriers d'information aux cliniques et cabinets vétérinaires et intervention en réunions (organisées par les DDSV)
Groupement Technique Vétérinaire	Mobilisation de la profession vétérinaire et soutien au projet	Rencontre du président du GTV

¹ Lorsqu'elles relevaient de maladies réglementées, toutes les actions du programme ont été menées en partenariat avec les DDSV, structures départementales sous tutelle de la Direction Générale de l'Alimentation du Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche. Ces services déconcentrés de l'Etat pour la gestion de la santé animale (faune domestique et sauvage) et de la sécurité sanitaire des aliments notamment sont les gestionnaires à l'échelle départementale des maladies réglementées et du risque zoonotique.

I.2.3. Organisation et fonctionnement du réseau insulaire

Un réseau d'épidémiosurveillance est généralement organisé autour de 4 étapes : (1) la collecte des prélèvements et leur analyse, (2) la centralisation des données et la validation, (3) la gestion et l'analyse des données, et (4) la diffusion des informations (Dufour and Hendriks, 2007). Adapté à notre système d'étude, la Corse, et prioritairement dédié à l'étude de la trichinellose, le dispositif d'épidémiosurveillance organisé sur l'île fonctionnait selon le schéma présenté ci-après (Fig. 10).

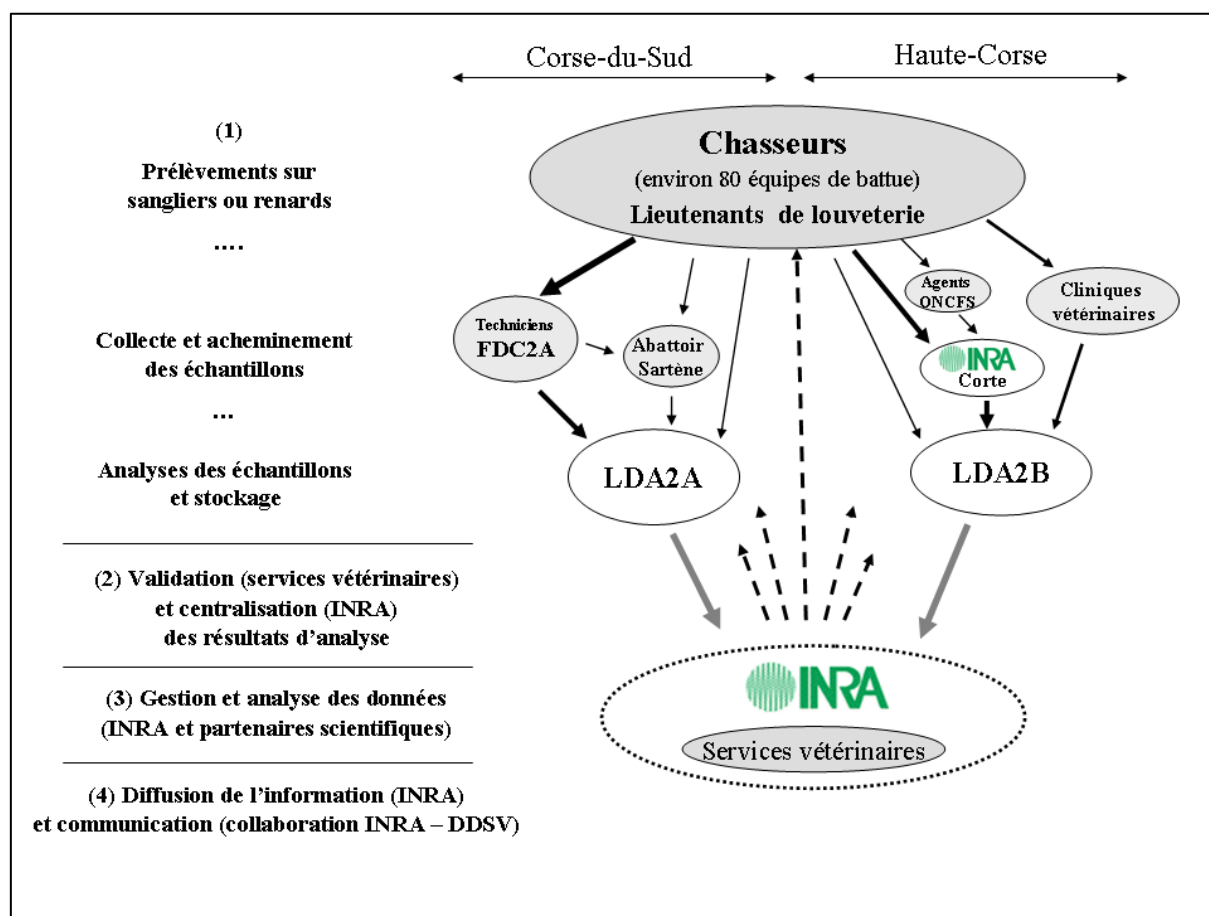


Figure 10 : Schéma d'organisation et de fonctionnement du réseau d'épidémiosurveillance active de la trichinellose mis en place en Corse de 2006 à 2008. Les flèches en trait plein noir matérialisent la circulation des échantillons (épaisseur de la flèche proportionnelle à la quantité d'échantillons), les flèches grises la transmission des résultats d'analyses, et les flèches en pointillés noir la diffusion de l'information liée au risque zoonotique.

(1) Réalisation des prélèvements, collecte, acheminement et analyses

Les prélèvements de sangliers étaient effectués par les chasseurs, puis acheminés jusqu'aux LDAV directement ou bien par l'intermédiaire de relais de collecte. En Corse-du-Sud ces relais pouvaient être les techniciens de la FDC2A ou, dans une moindre mesure, l'abattoir de Sartène, ou, très rarement, celui de Porto-Vecchio. En Haute-Corse, la plupart des prélèvements du nord du département étaient acheminés directement au LDAV à Bastia

par les chefs de battue. Dans le reste du département, les prélèvements étaient acheminés par l'intermédiaire de la coordinatrice du réseau, basée à Corte (prélèvements acheminés à l'INRA par les chasseurs ou des agents de l'ONCFS, ou tournée de collecte des prélèvements). Pour les régions de Calvi - Ile Rousse, Ponte-Leccia, Pietranera et la plaine orientale, les prélèvements étaient déposés chez les vétérinaires et acheminés au LDAH par un service interne au laboratoire ou bien par la coordinatrice du réseau.

Les renards étaient tirés lors des battues ou bien piégés par les lieutenants de louveterie. Les cadavres étaient acheminés entiers, directement ou par l'intermédiaire d'un des relais de collecte, jusqu'aux laboratoires, où les prélèvements étaient effectués. Dans certains cas, les prélèvements sur renard étaient effectués par la coordinatrice du réseau, directement sur le lieu de tir ou de piégeage. Notons qu'aucun tir de nuit de renard n'a été effectué par les lieutenants de louveterie, faute d'accord préfectoral.

En période de chasse, les analyses de recherche directe de larves de trichine étaient réalisées chaque semaine par les LDAH, agréés par l'AFSSA pour cette analyse. Les morceaux d'échantillons restant après analyse étaient stockés dans les congélateurs des LDAH. En fin de campagne de chasse, ils étaient envoyés à l'AFSSA à Maisons-Alfort (UMR BIPAR) pour analyses sérologiques (trichinellose et toxoplasmose, voir II et III).

(2-3) Validation et centralisation des résultats, gestion et analyse des données

Les résultats de trichinellose étaient transmis simultanément par fax et courrier aux DDSV, pour validation, et par e-mail et/ou courrier à la coordinatrice du réseau basée au LRDE de l'INRA, centralisatrice et gestionnaire des données.

Les données étaient ensuite analysées par l'unité d'épidémiologie animale (EpiA) de l'INRA en collaboration initialement avec le Laboratoire national de référence des *Trichinella* de l'AFSSA Maisons-Alfort. Par la suite, étant donné le développement d'autres travaux et questions de recherche, des partenariats scientifiques ont été développés :

- avec les équipes de Reims (EA3800, CHU de Limoges) et de Limoges (EA3174, Université de Reims Champagne-Ardenne) du Centre national de référence de la toxoplasmose, l'équipe toxoplasmose de l'unité BIPAR de l'AFSSA et l'équipe du Laboratoire de biologie et écologie évolutive des populations de l'Université de Lyon (UMR CNRS 5558) pour l'analyse des données de toxoplasmose chez le sanglier et le renard (voir III),

- avec l'Unité de zoonoses bactériennes (UZB) de l'AFSSA Maisons-Alfort et l'Unité Sanitaire de la Faune (USF) de l'ONCFS pour les travaux concernant la tuberculose bovine chez le sanglier (voir IV),

- avec le Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires de Savoie (LDAV73), l'unité 'JE 2533 – USC AFSSA VECPAR' de l'université de Reims et le Laboratoire de Recherche sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages (LERRPAS) de l'AFSSA Nancy pour des travaux sur l'helminthologie parasitaire chez le renard. Ces travaux ne concernent pas la problématique directe de cette thèse ; aussi ils ne seront pas davantage détaillés.

(4) Diffusion de l'information et communication

Le rendu des résultats, en continu ainsi qu'à la fin de chaque étape intermédiaire, est une action indispensable au maintien de la mobilisation des acteurs, notamment de terrain. Aussi, chaque semaine, les équipes de battue étaient informées des résultats de leurs prélèvements : pour les équipes de Corse-du-Sud un courrier leur était envoyé par les techniciens de FDC2A ; pour les équipes de Haute-Corse, nous leur communiquions les résultats par téléphone ou directement.

A la fin de chaque campagne de chasse, les équipes de battue recevaient un courrier récapitulatif de leurs prélèvements effectués au cours de la saison, et étaient conviées à des réunions de présentation des bilans régionaux. La mise en place de temps d'échanges et de discussion permet aux membres du réseau, issus de disciplines et institutions différentes, de se rencontrer, de communiquer sur les mêmes bases et d'agir ensemble. Aussi, nous organisons des réunions régulièrement, notamment en fin de saison de chasse ; réunions où tous les acteurs initialement mobilisés (Table 2.1) étaient conviés. Afin de faciliter la venue des acteurs notamment de terrain, ces réunions bilan étaient organisées en plusieurs lieux de l'île (Bastia, Corte, Ajaccio et Sartène, la seconde année) et un rappel des dates de réunions était effectuées par voie de presse (journal et radio).

Par ailleurs, afin de garder les acteurs du réseau mobilisés, nous envoyions en début et fin des saisons de chasse un bulletin d'information aux acteurs institutionnels (DDSV, LDAV, ONCFS, DDAF, GTV) (e-mails), aux vétérinaires (courriers postaux) et aux présidents d'ACCA (courriers postaux ou, en Corse-du-Sud, lettres dans les carnets de battue).

Enfin, dans le but de maintenir une certaine sensibilisation au projet sur l'île et de diffuser largement les informations, différentes actions de communication étaient mises en place, après concertation avec les DDSV : article de presse dans le Corse matin, article de vulgarisation dans le journal de la Fédération régionale des chasseurs de Corse, intervention radiophonique sur Radio France Frequenza Mora.

L'organisation du dispositif de recueil des données étant présenté, nous allons maintenant nous intéresser à détailler l'étude des zoonoses du sanglier que nous avons menée en Corse. Cette étude concernait la trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose bovine. Les travaux sur chacune de ces zoonoses ont donné lieu à la rédaction d'articles scientifiques (publié, en révision, soumis ou en préparation), présentant les matériels et méthodes, les résultats obtenus et leurs discussions. Aussi, l'étude par chapitre s'articulera autour des articles, introduits par une présentation de la problématique et des questions de recherche posées, et ponctués par une discussion des résultats principaux.

II. La trichinellose

II.1. Contexte épidémiologique et objectifs

II.1.1. La trichinellose en Corse avant notre étude

Jusqu'en 2004, la Corse était une région considérée comme indemne de trichinellose : aucun cas humain (maladie) ni animal (détection de larve) n'avait été jusqu'alors officiellement rapporté.

En mars 2004, deux carcasses de porcs infestées par *Trichinella britovi* sont découvertes à l'abattoir Bastelica (Corse-du-Sud) à l'occasion du contrôle systématique obligatoire (digestion pepsique). En novembre de la même année, huit nouvelles carcasses de porcs sont trouvées infestées. Au total, dix carcasses de porcs sont saisies dans le courant de l'année 2004, sur 2616 porcs testés en abattoirs cette année là (2044 à l'abattoir de Bastelica, 463 à Cuttoli et 109 à Sartène).

L'enquête épidémiologique menée par la DDSV de Corse-du-Sud à la suite de la découverte de ce foyer a révélé que les porcs positifs appartenaient à deux propriétaires différents, mais qu'ils avaient été élevés au sein d'une même bande, sur des parcours du Haut Taravo sur la commune de Guitera-les-bains (Corse du Sud, 40km à l'Est d'Ajaccio) (Fig. 11.b). Les sérologies de 186 porcs d'élevage à proximité se sont toutes révélées négatives⁵. Sur les 103 prélèvements effectués sur porcs à l'abattoir, un animal était douteux³⁰ en sérologie mais négatif en recherche directe de larve.

Lors de la campagne de chasse qui a suivi la découverte du foyer, une seconde enquête épidémiologique, menée conjointement par l'AFSSA (BIPAR), la FDC2A, le LDAV2A, l'ONCFS, la DDAF et des lieutenants de louveterie, a permis de tester 361 sangliers, dont 251 en Corse-du-Sud et 145 en Haute-Corse (Fig. 11.a). Tous se sont révélés négatifs en recherche directe de larves. En revanche parmi les 14 renards prélevés, une femelle, abattue à 5 km au sud-ouest du foyer par le louvetier de la circonscription (Fig. 11.b), était positive en larve de *Trichinella britovi* (charge parasitaire de 1 larve/g).

³⁰ Test ELISA, Institut Pourquier, pour les porcs : échantillon négatif lorsque le rapport de la densité optique à 450nm de l'échantillon sur celle du témoin positif est inférieure à 30% et douteux lorsque ce rapport est compris entre 30 et 40 %.

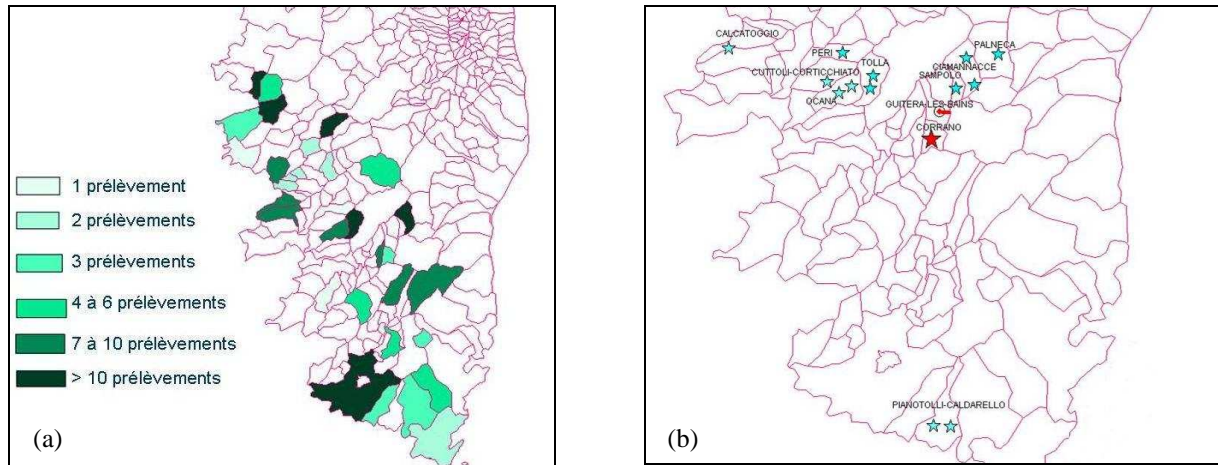


Figure 11 : Résultats de l'enquête épidémiologique faune sauvage menée en 2004-2005 après la découverte d'un foyer porcin de trichinellose à Guitera-les-Bains (flèche cerclée sur la figure b) : (a) nombre de prélèvements de sanglier effectués par commune (aucun animal positif en recherche directe de larve), (b) localisation des renards prélevés (petites étoiles bleues) et du renard positif en larve de *Trichinella britovi* (grande étoile rouge). Source DDSV Corse-du-Sud.

Suite à ce foyer porcin et vulpin, deux hypothèses permettant d'expliquer la découverte de la trichinellose en Corse avaient été proposées : (1) soit une introduction relativement récente d'un animal infesté (chien, sanglier clandestin), mort et consommé par les porcs et renard trouvés positifs, (2) soit un phénomène enzootique ancien, évoluant à très faible prévalence, et ayant peut-être été révélé à la faveur d'un mouvement exceptionnel de faune sauvage, par exemple l'incendie de l'été 2003 (à 7 km de la zone d'élevage où les porcs infestés étaient élevés). Pour autant, aucune des deux hypothèses n'avait pu être confirmée.

Les données issues de deux précédentes enquêtes sérologiques menées chez le sanglier avant l'apparition des cas de 2004 ne permettaient d'ailleurs pas d'éclairer davantage l'origine du foyer :

- en 2000-2001, en Corse du Sud, parmi les 110 sérums testés un sérum était apparu positif³¹. Toutefois, compte tenu notamment de la spécificité du test ELISA utilisé (98%), la séropositivité de l'échantillon avait été considérée comme non significative et l'échantillon classé comme faux-positif (Boué *et al.*, 2001).

- en 2003-2004, en Haute Corse, sur 80 sérums testés, 8 sérums s'étaient révélés positifs (Fig. 12). Aucune larve n'avait été détectée chez ces mêmes sangliers (recherche directe de larves) (Boué *et al.*, 2004) mais compte tenu du « signal » sérologique observé, le renforcement du dépistage direct du parasite sur un échantillon large (2 à 4000 sangliers) et à l'échelle de la région avait été préconisé (Rossi *et al.*, 2008)

³¹ Seuil de séropositivité fourni par le fabricant (Institut Pourquier) du test ELISA pour les sangliers : rapport de la densité optique à 450nm de l'échantillon sur celle du témoin positif supérieur à 100%.

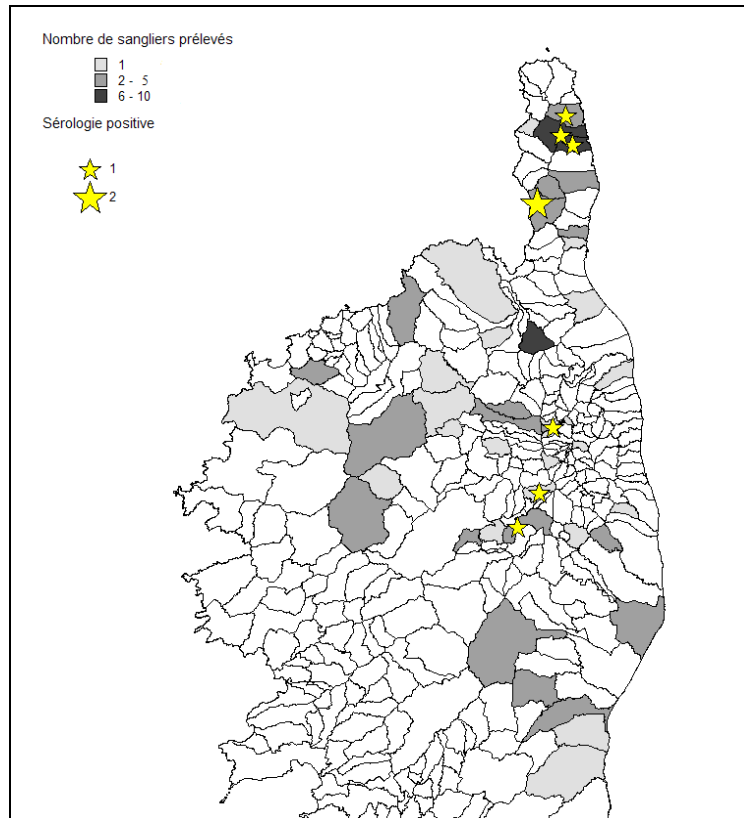


Figure 12 : Résultats de l'enquête sérologique trichinellose chez le sanglier menée en 2003-2004 par la FDC2B en collaboration avec la DDSV2B : nombre de prélèvements effectués et localisation des échantillons séropositifs. Source : FDC2B et Boué *et al.* (2004).

II.1.2. Questions épidémiologiques à traiter

Suite à ce foyer et à la synthèse des données existantes en Corse, plusieurs questions restaient donc en suspens :

1. Le parasite circule-t-il effectivement dans la faune sauvage sur l'île et existe-t-il un cycle sauvage d'évolution à bas bruit de la trichinellose ?
2. Si oui : quelle est la prévalence parasitaire dans les populations de sangliers et de renards ? Y a-t-il des régions de l'île où les animaux sauvages gibiers (sangliers) et domestiques (porcs) sont plus exposés au parasite ?
3. Existe-t-il un risque pour la santé humaine lié à la consommation de viande de sanglier ? Peut-on évaluer ce risque zoonotique ?
4. En particulier, la souche détectée sur l'île étant de l'espèce *Trichinella britovi*, connue pour être cryo-résistante (cf. P1-II.3.2.1, p.42), la congélation permet-elle d'assainir les viandes ? Les techniques traditionnelles de fabrication des produits de charcuterie permettent-elles de désactiver les larves de parasite ?

Ces dernières questions concernant le risque pour la santé humaine étaient d'autant plus sensibles que, en avril et décembre 2005, sur l'île italienne voisine, la Sardaigne, 19 personnes avaient contracté la trichinellose suite à ingestion de saucisses provenant de deux porcs plein-air (Pozio *et al.*, 2006b).

Aussi, la question de la trichinellose en Corse est apparue tout naturellement comme un des objets prioritaires du programme BioScope. L'objectif de notre travail était donc d'apporter des éléments de réponse à ces questions.

Le quatrième point a nécessité la mise en place d'un programme expérimental spécifique. Dénommé « TrichiCorse », et porté par une collaboration AFSSA-INRA, ce programme consiste en une infestation expérimentale de porcs et vise à estimer la survie à la congélation et dans les produits de salaison traditionnelle corse des larves de *Trichinella britovi* (souche issue du foyer de 2004). L'expérimentation étant toujours en cours, nous ne pouvons apporter à l'heure actuelle les éléments de réponse à ces questions spécifiques.

Les travaux d'épidémiologie présentés ci-après (cf. P2-III.2, p.111) avaient pour but d'éclaircir les questions de trois premiers points. Ils font l'objet d'un article en cours de préparation :

Richomme C., Lacour S.A., Ducrot C., Gilot E., Casabianca F., Maestrini O., Vallée I., Grasset A., van der Giessen J., and P. Boireau. **Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*) in a French insular region.** Manuscrit en cours de préparation.

Cherchant à approfondir les connaissances d'une zoonose liée au sanglier, cette étude sur la trichinellose constitue le premier exemple illustrant notre problématique de thèse.

Le plan d'échantillonnage a été conduit en s'appuyant sur le dispositif décrit au chapitre P2-I.2. Ce plan d'échantillonnage avait pour objectif de dépister une prévalence même faible de trichinellose dans la faune sauvage en Corse ($\leq 0,3\%$ chez le sanglier et $\leq 3\%$ chez le renard) avec un risque d'erreur de 5%. Aussi, nous prévoyions la collecte par département d'un minimum de 1000 prélèvements de sangliers et 100 renards, soit respectivement 2 000 sangliers et 200 renards sur l'ensemble du territoire corse. Pour les sangliers, la mobilisation des chasseurs étant basée sur le volontariat, nous n'avions pas la possibilité de fixer le plan d'échantillonnage d'un point de vue des sex-ratio et âge-ratio, contrainte supplémentaire qui aurait menacé encore davantage la faisabilité et l'efficacité du dispositif.

II.2. Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*) in a French insular region

Céline Richomme^{a,b}, Sandrine A. Lacour^c, Christian Ducrot^a, Emmanuelle Gilot^d,
François Casabianca^b, Oscar Maestrini^b, Isabelle Vallée^c, Aurélie Grasset^c, Joke van der Giessen^e,
and Pascal Boireau^c

^a INRA, UR 346, 63122 Saint Genes Champanelle, France

^b INRA, UR 45, 20250 Corte, France

^c AFSSA, INRA, ENVA, UPVM, UMR 956, Biologie Moléculaire et Immunologie Parasitaires et Fongiques, 23 av du Général de Gaulle, 94700 Maisons Alfort, France

^d Université de Lyon, Ecole Nationale Vétérinaire, 1 Avenue Bourgelat, F-69280, Marcy l'Etoile, France

^e LZO, RIVM, PO box 1, 3720BA Bilthoven, The Netherlands

En cours de préparation

Abstract:

Until 2004, the Mediterranean island of Corsica was considered as *Trichinella*-free, but during meat inspection in 2004 *T. britovi* larvae were discovered in domestic pigs and in addition in one fox in the same area. Consecutively to the outbreak, the need was to determine the prevalence of infection in wildlife, and to determine the risk with outdoor domestic pig husbandry in this area. *Trichinella* survey was performed in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*), the two large wild species present on the island. Muscles of diaphragms of 1,881 wild boars and 74 forelegs of foxes were artificially digested. No *Trichinella* larva was identified in wild boars or foxes. The highly sensitive ELISA was used to test muscle fluid samples of 1,492 wild boars. The apparent serological prevalence of *Trichinella* infections in wild boars was 2.01% (95% CI: 1.36-2.86). The present results could suggest that wildlife is currently exposed to *Trichinella* in Corsica. In this context, adequate cooking and veterinary controls of meat which offer the only complete sanitary warranties to consumers are still necessary.

Keywords: *Trichinella britovi*; epidemiology; Corsica; wildlife; ELISA; artificial digestion.

1. Introduction

Trichinella spp. are parasites world widespread infecting human and other omnivore or carnivore mammals. Human trichinellosis can be acquired through consumption of undercooked meat of domestic animals (pig) and wildlife (wild boar, bear). The disease is still actual in many parts of Europe, particularly in Balkans and Baltic republics (Dupouy-Camet, 2000). Small outbreaks related to wild boar meat have been lately reported in hunters and their families in Spain, Poland, France (De Bruyne *et al.*, 2006; Dupouy-Camet, 2006) and outbreaks due to infected pork in Spain and Germany (Nöckler *et al.*, 2001; Rodriguez de las Parras *et al.*, 2004). Infected foxes have also been discovered in Ireland (Rafter *et al.*, 2005) after several decades without any *Trichinella* identification. Until recently the Mediterranean islands were still supposed to be *Trichinella*-free due to the lack of any report of human or animal infection. In 2004, the parasite was discovered on the French Mediterranean island of Corsica thanks to the official controls in slaughterhouses: *Trichinella britovi* was detected in March 2004 and November 2004 on 4 and 6 pigs respectively originated from the same remote valley in the centre of the Island (Haut Taravo). One fox amongst 7 from the same area was tested positive after digestion of 20g of foreleg meat (Anonymous, 2005).

In Corsica, pig breeding is based on an extensive outdoor farming system (26,360 pigs). Interactions between pigs and wildlife can occur easily. In parallel wild boar hunting and game meat consuming are important, with cooking practice like barbecue becoming more and more popular. In this context, and according to the recent European Union Council Directive 2075/2005 (European Economic Community, 2005), each pig has to undergo a systematic meat inspection and if *Trichinella* negligible risks can be proven also epidemiological survey of trichinellosis in wildlife is mandatory.

Moreover, consequently to the first discovery of the parasite on Corsica in 2004, the epidemiological situation of *Trichinella* in wildlife needed to be determined. The present work aimed at estimating the parasitological prevalence of trichinellosis in red fox (*Vulpes vulpes*) and wild boar (*Sus scrofa*), using a direct detection method, and the level of exposure of wild boar to the parasite, using a serological method.

2. Material and methods

2.1. Wildlife sampling

A protocol was built up to perform the study on the island, including (i) mobilisation of voluntary hunters; (ii) organisation of the collect and transport of the samples, directly by hunters or through the help of federal hunting guard or veterinarians, to the 2 Corsican local

Veterinarian Laboratories, authorized by the French agricultural ministry for *Trichinella* detection; (iii) data centralisation and result notification to authorities and hunters; (iv) samples transmission to the National Reference Laboratory for serological examination.

The plan was established during 2 hunting seasons, between August 2006 and January 2008 (March for foxes), to sample wild boar and fox populations on the entire island (8.680 km²).

At carving, hunters removed diaphragm muscle, one of the predilection sites for *Trichinella sp.* larvae in wild boars (Kapel *et al.*, 2005). Samples were placed into plastic bags, conserved at 4°C less than 3 days and transported in a refrigerated container to one of the two local Veterinarian Laboratories where they were stored in a refrigerator at 4°C before artificial digestion. Trapped, shot or accidentally killed foxes were transported to the Laboratories where the lower forelimb muscle (Kapel *et al.*, 2005) was removed and analysed directly or frozen before analysis.

Age, gender and place of hunting or trapping were recorded for each animal. For wild boar, age was determined based on coat colour and estimated body weight, and each individual was classified either as juvenile (0–1 year old) or adult (>1 year). For fox, age - juvenile or adult (older than 1 year) - was affected according to dental inspection when possible.

2.2. Direct detection

Detection of muscle larvae was performed by the artificial digestion method according to the Directive 2075/2005 (European Economic Community, 2005). Five grams of diaphragm muscle sample per wild boar (or 20g of fox forelimb muscle) were examined together in a pooled sample of 100 g. If a pool proved to be positive, the remaining muscle tissue samples should be digested individually. After digestion analysis, remaining muscle tissue samples were frozen at -20°C, and at the end of the two sampling seasons they were sent to the National Reference Laboratory for serological examination.

2.3. Serological analysis

Meat juice samples were obtained after freezing small pieces of muscle at -20°C in a plastic bag overnight and then thawing the bag at room temperature (Nöckler *et al.*, 2005), and collected opening a corner of the bag.

The detection of specific antibodies against *Trichinella* antigens was first performed using ELISA based on excretory/secretory (E/S) antigens of *Trichinella spiralis* (Institut Pourquier, Montpellier, France). Muscle fluids were diluted two times and for each sample, the optical density at 450 nm (OD.450) was registered. Sample/positive control (S/P) ratio (%) was calculated: mean OD.450 value of the sample / mean OD.450 value of the positive control. According to the manufacturer instructions, muscle fluid samples were considered as positive when the S/P ratio was higher than 90%.

2.3. Statistical analysis

Confidence limits of prevalence were established by Exact Binomial Test with 95% confidence interval using the R software (R Development Core Team, 2008).

3. Results

3.1. Sampling

Between August 2006 and January 2008, 80 hunters volunteered for the study and sampled 1,881 wild boars: 658 during the first hunting season (September 2006 – March 2007) and 1,223 during the second one (September 2007 – March 2008). The sample covers 129 counties (among 360 in Corsica) and 37 districts (among 43), with 1 to 251 samples per

district (Fig. 1.a). None age was registered for 36 individuals. For the others, 1539 individuals were adults and 306 were juveniles. None gender was registered for 163 individuals. For the others, 882 were males and 836 were females.

In parallel, 74 foxes were collected coming from 36 counties and 20 districts (Fig. 1.b). Information on age was available for 40 red foxes: 14 were juveniles and 26 were adults. Gender recorded for 42 red foxes indicated that 16 animals were females and 26 were males.

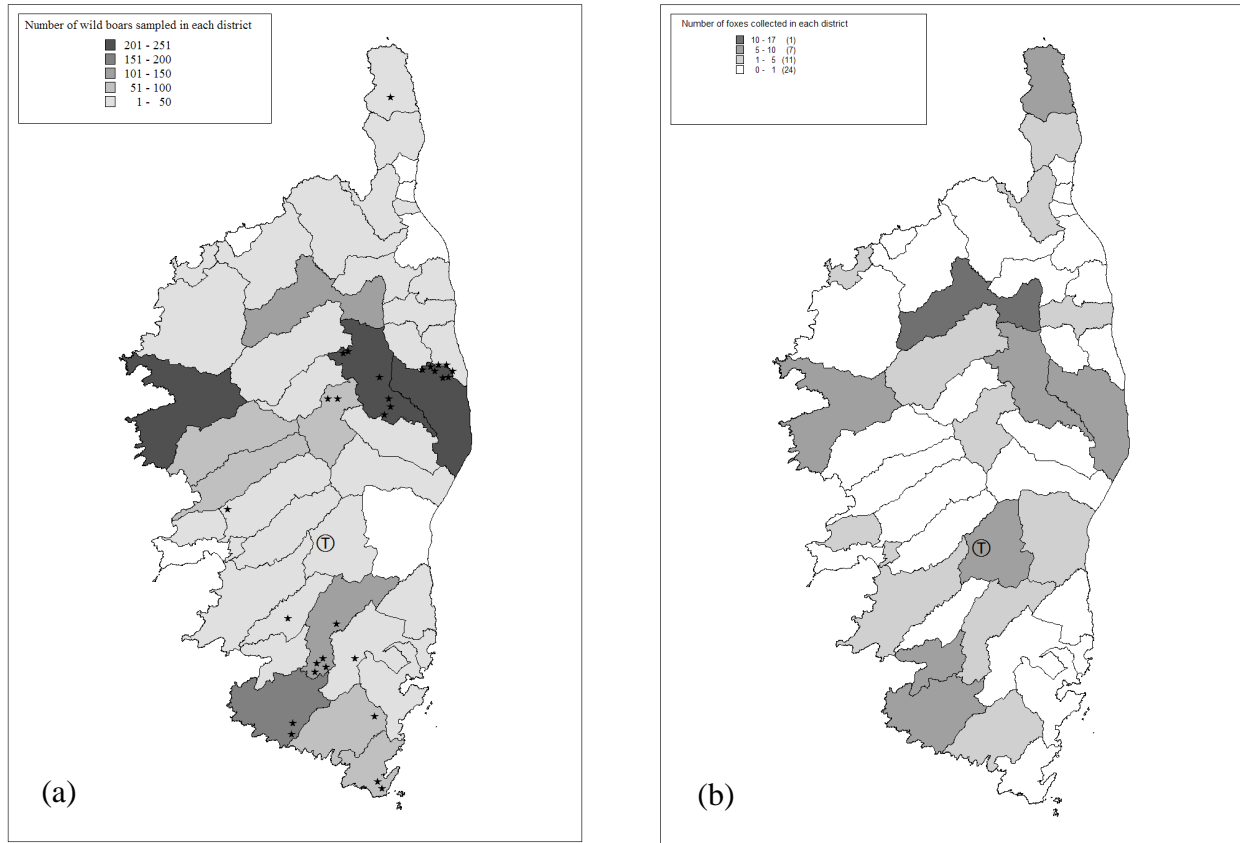


Figure 1. Survey for *Trichinella spp.* in Corsica during 2006-2008 (a) : number per district of wild boars sampled (from white to hard grey) (n=1881) and localisation of seropositive wild boar (black stars) (n=30); (b) number per district of foxes sampled.

3.2. Direct detection

None of the muscle samples were positive for *Trichinella* larvae, neither in fox nor in wild boar (Table 1).

3.3. Serological analysis

Meat juice was extracted from 1492 wild boar samples then serologically tested by E/S ELISA. The 30 samples considered as seropositive were situated all over the island (Fig. 1). Two of these positive samples came from juvenile wild boar. Additional diaphragm tissue was not available for a confirmatory artificial digestion test of seropositive samples as recommended by the OIE (Vallat, 2008). The prevalence in the sampled population was estimated to 2.01%, with a 95% confidence interval of 1.36 - 2.86%.

Table 1. Parasitological and serological results in wild boar (*Sus scrofa*) and red fox (*Vulpes vulpes*) in Corsica during 2006-2008 survey for *Trichinella* spp. ND for not done.

Species	Artificial digestion			Serology ^a		
	No. tested	No. positives	Prevalence (95 % CI)	No. tested	No. positives	Apparent seroprevalence (95 % CI)
Wild boars	1880	0	0 (0-0.19)	1492	30	2.01 (1.36–2.86)
Foxes	74	0	0 (0-4.86)	ND	ND	ND

^a ELISA on meat juice samples

4. Discussion

In 2004, *T. britovi* larvae were detected in 10 domestic pigs and one red fox in the middle of Corsica (Anonymous, 2005). As *Trichinella* has never been detected in Corsica before this outbreak, an important epidemiological survey was conducted to study the circulation of the parasite into the Corsican wildlife. The investigation was focused on wild boars and red foxes, allowing the first local large-scale wildlife survey conducted in France.

Wild boar is one of natural host of *T. britovi* (Pozio *et al.*, 2009b). Moreover, wild boar meat was reported as the source of contamination in many human trichinellosis (Rodriguez de las Parras *et al.*, 2004 ; De Bruyne *et al.*, 2006; Gallardo *et al.*, 2007). Among the 1881 wild boars analysed by the artificial digestion method, we did not found any *Trichinella* larva. The digestion test is a highly specific test, but its sensitivity may depend on the size of the tissue sample. If muscle larvae burden is lower than 1 larva per 5 gram of muscle the routine detection failed to detect the parasite (Gajadhar *et al.*, 2009). So we can not exclude the presence of larvae in parasitological burden lower than the detection level of the method.

Only the recovery of muscle larvae and the assessment of the muscle larval burden provide information on the real presence of *Trichinella* in a host population and thereby allows for assessment of real risk and zoonotic potential. But seroprevalence can be interpreted as an indicator of the level of exposure in the host population and can inform on the circulation of the parasite. Indirect *Trichinella* ELISA analysis revealed here an apparent seroprevalence of 2.01% in the Corsican wild boar population and thus the probable exposure of this population to trichinellosis. The usefulness of serological methods have been highlighted in wildlife monitoring programme requested by the EU regulation 2075/2005 (Gajadhar *et al.*, 2009). ELISA based on E/S antigens of *Trichinella*, an appropriate serological method for the indirect detection of *Trichinella* infection (Vallat, 2008), allow a rapid screening of a large number of samples in few hours. In wild boar, infections with all of the 7 genotypes of *Trichinella* can be detected using any 7 E/S antigens (Kapel, 2001), which points to the potential use of 1 common antigen for epidemiological studies on *Trichinella* in this species. Nevertheless cross-reactivity to other antibodies, especially because considering a wild host, can not be excluded. If we have had greater volumes of meat juice, the quality of wild boar samples could have been improved by carrying out filtration step prior to running the ELISA (Gamble *et al.* 2004).

Seroconversion may reflect the presence of muscle larvae, alive and established after an initial infection, even the presence of these larvae in low quantity when using a highly sensitive method. Indeed according to previous experiment on pigs, ELISA serological methods present a sensitivity as low as 1 larva per 100 gram of muscle (Gamble *et al.*, 1983). In wild boar experimental infection with some strain of *Trichinella* has shown that low infection levels in wild boars are still able of invoking sero-conversion (e.g *T. nativa* infections with less than 0.01 lpg) (Kapel, 2001). Seroconversion can also reflect an exposure

to the parasite but with a rapid expulsion of worms/larvae at the intestinal phase. Such cases of seroconversion without the establishment of muscle larva has been demonstrated in a pigs, wild boar and rats (Kapel and Gamble, 2000; Kapel, 2001; Malakauskas *et al.*, 2001). Establishment of muscle larva in a host is associated with infectivity of the parasite in this host and its immune response. Kapel (2001) showed that infectivity in wild boar is function of the genotype of *Trichinella*. In its experiment *T. britovi* was moderately infective in wild boar. We can not exclude that infectivity among strain of one genotype is also variable and that in the Corsican strain of *T. britovi* has a low infectivity in wild boar. Thus wild boar could be exposed to the parasite, without possibility of reproduction for the parasite and establishment of larvae in muscle but would nevertheless express antibodies.

Results obtained in Corsican wild boar - low seroprevalence (2.01%) and no *Trichinella* larvae - match previous results obtained in European countries. In Germany, 1.4% wild boars (n=16,888) were positives by ELISA whereas the prevalence determined by artificial method was less than 0.01% (Nöckler *et al.*, 1999). In Switzerland, 8.7% wild boars (n=356) exhibited antibody binding but no *Trichinella* larvae were found in subsequent digestion of 20g of diaphragm material from each of the seropositive animals (Gottstein *et al.*, 1997). In France, an epidemiological survey conducted from 2000 to 2004 on 4517 wild boars identified 4% of seropositive animals (Hars *et al.*, 2007) while none infested animal was detected. All these studies used the same serological test, an ELISA method with E/S antigen. Nevertheless they did not use the same cut-off and method to interpret optical density results, which made results not easily comparable. The question of the interpretation of serological results when samples are coming from wildlife is all the more important to consider that most of the serological tests and cut-off level are validated for domestic species. Experimental designs are one way to validate tests but they are usually heavy to lead with wild species. The use of mathematical method, as proposed by Tenuis *et al.* (2009) in pigs, could be also a suitable interesting alternative.

Trichinella detection in Corsica was also focused on red fox, a key species in the sylvatic cycle of *T. britovi* (Pozio *et al.*, 2009b). High prevalence of *Trichinella* in red fox has been reported in Europe (Rossi *et al.*, 1992; van der Giessen *et al.*, 1998; Criado-Fornelio *et al.*, 2000; Perez-Martin *et al.*, 2000). In Corsica, one positive fox was detected infected with *T. britovi* in 2004, in same time and area than the ten domestic pigs. In the present study no other fox was found infected with the parasite, although the 74 red foxes sampled came from areas where serological traces of *Trichinella* infection have been detected in wild boar. One explanation of none evidence of the parasite in foxes in the present study may be the too low number of foxes screened. No serological analysis was performed on red foxes as the maximum of the sensitivity of the artificial digestion method was reached directly with the digestion of 20g of forelimb muscle.

Similarly with the present study, no *Trichinella* larva was found in Sardinia in 6,188 wild boars and 13 red foxes analysed by artificial digestion, whereas 7 domestics pigs harboured the parasite and 3 of them were the source of trichinellosis human cases (Pozio *et al.*, 2009a). In order to trace back the origin of food contamination, the genetic polymorphism of *Trichinella* isolates are under study. A similar study is on going on Corsican isolates from the outbreak of 2004. The comparison of the results of these two studies would maybe allow determining if *T. britovi* isolates from Corsica and Sardinia have the same origin or not.

The emergence of *Trichinella* in an area previously free can occur with the introduction of the parasite by humans, as garbage holding contaminated food leftovers by tourists or hunters who had a hunting trip abroad and who came back with uncontrolled infected game meat. In the present survey seropositive individuals were found in many districts, even far from the outbreak area of 2004. This result seems to indicate that the infection concerns the entire insular region, and could support the assumption that *Trichinella britovi* was already present on the island before its emergence, revealed in 2004 thanks to a

still indeterminate phenomenon. One hypothesis could be related to the infecting capacity of *Trichinella* according to its host (Dea-Ayuela *et al.*, 1993; Zhang *et al.*, 1993). Two hosts have a consequential role in the transmission of *T. britovi*: red fox and rodent. Red fox could be a species which amplifies the infecting capacity of *Trichinella*, whereas rodent could attenuate the infecting capacity of *T. britovi*. This last mentioned is supported by experimental data of pigs infected with high doses of *T. britovi*: *T. britovi* larvae maintained on rodents were administrated to pigs and their larval recovery, determined by artificial digestion after the slaughter of pigs, was very low (Kapel *et al.*, 1998; Nöckler *et al.*, 2005). In contrast, in Corsica, the first pig detected naturally infected with *T. britovi* in 2004, where the red fox was found positive, exhibited a burden larval at 144 lpg. Performing an experimental infection of pigs with *T. britovi* maintained previously in foxes would be interesting to compare the level of infecting capacity of *Trichinella*.

5. Conclusions

In 2004 *Trichinella britovi* was discovered for the first time in Corsica, in ten domestic pigs and one red fox. In the present study, direct testing by artificial digestion of wild boars or foxes did not identify any infected tissues. However, ELISA confirms the presence of seropositive wild boars, in many different districts of the island, and thus the probable existence of a sylvatic cycle of trichinellosis on the island. Recently, (Takumi *et al.* Takumi *et al.*, 2009) evaluated for the first time the risk of transmission of *Trichinella* from wildlife to humans. They demonstrated that the risk of human trichinellosis, associated with the lowest intake from the environment (2 *Trichinella* larvae) was estimated at 5%. Therefore, the human risk of trichinellosis from wildlife is not negligible even if the parasite is circulating at undetectable levels in wildlife.

In Europe, wildlife represents the most important reservoir of *Trichinella* which makes eradication impossible and explains why the parasite continue to circulate, even though the prevalence in wildlife can be very low for many years (Rafter *et al.*, 2005). The cycle of *Trichinella sp.* is maintained by cannibalism and scavenging behaviour, and *Trichinella* larvae may remain infective in muscle tissues buried in the soil for at least 3 months (Jović *et al.*, 2001). So to limit the cycle of the parasite, a special attention should be accorded to the waste management after slaughtering and hunting. In parallel adequate cooking and veterinary controls offer the only complete sanitary warranties to consumers. Even if any larvae have been found yet, the probability of appearance of one wild boar massively infested exists. Thus to respect safety culinary practices and test game meat for *Trichinella* to prevent the transmission to humans in Corsica is important. In addition, current experimental works will allow answering questions on the effectiveness of freezing and salting to inactivate *T. britovi* in meat.

The present work emphasizes the necessity of developing ELISA method more specific to wild species for surveillance of trichinellosis in wildlife (Bengis *et al.*, 2002). It also supports the hypothesis that policy and natural boundaries like seas or mountains do not form efficient barriers to prevent introduction and establishment of *Trichinella* in reservoir animals in a special habitat, even in an insular one. It finally assesses the difficulty to demonstrate the *Trichinella* status in a geographical area where parasite is certainly present at low prevalence.

Acknowledgments

We are grateful to the Veterinarian Departmental Laboratories of Haute-Corse and Corse-du-Sud for their laboratory work. This study was supported by French National Research Agency program Bioscope (program ANR 05 SEST 048-02), French national grant (DGAL), the Trichi-MED grant (MPY 13/04-27) of the MedVetNet project (FOOD-CT-2004 506122) and the French national contract INRA/AFSSA Trichicorse.

References

- Anonymous, 2005. Feasibility of establishing *Trichinella*-free areas, and its feasibility on the risk increase to public health of not examining pigs from those areas for *Trichinella* spp. The EFSA Journal. 277, 1-37.
- Bengis, R.G., Kock, R.A., Fischer, J., 2002. Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. Rev. Sci. Tech. OIE. 21, 53-65.
- Criado-Fornelio, A., Gutierrez-Garcia, L., Rodriguez-Caabeiro, F., Reus-Garcia, E., Roldan-Soriano, M.A., Diaz-Sanchez, M.A., 2000. A parasitological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the province of Guadalajara, Spain. Vet. Parasitol. 92, 245-251.
- De Bruyne, A., Ancelle, T., Vallee, I., Boireau, P., Dupouy-Camet, J., 2006. Human trichinellosis acquired from wild boar meat: a continuing parasitic risk in France. Euro surveill. 11(37), pii=3048. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/060914.asp#060915>.
- Dea-Ayuela, M.A., Martinez-Fernandez, A.R., Bolas-Fernandez, F., 1993. Infectivity of *Trichinella* species in relation to increasing infective doses. In: Campbell, W.C, Pozio, E., Bruschi, F. (Eds), Proceedings of the eighth International Conference on Trichinellosis. Rome, Italy. 147-152.
- Dupouy-Camet, J., 2000. Trichinellosis: a worldwide zoonosis. Vet. Parasitol. 93, 191-200.
- Dupouy-Camet, J., 2006. Trichinellosis: still a concern for Europe. Euro Surveill. . 11(1), pii=590. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/em/v511n501/1101-1222.asp>.
- European Economic Community, 2005. Regulation (EC) No 2075/2005 of the European Parliament and of the Council of 5 December 2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. Off. J. EC. L 338, 60-82.
- Gajadhar, A.A., Pozio, E., Ray Gamble, H., Nöckler, K., Maddox-Hyttel, C., Forbes, L.B., Vallée, I., Rossi, P., Marinculic, A., Boireau, P., 2009. *Trichinella* diagnostics and control: Mandatory and best practices for ensuring food safety. Vet. Parasitol. 159, 197-205.
- Gallardo, M.T., Mateos, L., Artieda, J., Wesslen, L., Ruiz, C., García, M.A., Galmés-Truyols, A., Martin, A., Hernández-Pezzi, G., Andersson, Y., Gárate, T., Christensson, D., 2007. Outbreak of trichinellosis in Spain and Sweden due to consumption of wild boar meat contaminated with *Trichinella britovi*. Euro Surveill. 12(11), pii=3154. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3154>
- Gamble, H.R., Anderson, W.R., Graham, C.E., Murrell, K.D., 1983. Diagnosis of swine trichinosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory- secretory antigen. Vet. Parasitol. 13, 349-361.
- Gottstein, B., Pozio, E., Connolly, B., Gamble, H.R., Eckert, J., Jakob, H.-P., 1997. Epidemiological investigation of trichinellosis in Switzerland. Vet. Parasitol. 72, 201-207.
- Hars, J., Rossi, S., Boue, F., Garin-Bastuji, B., Le Potier, M.F., Boireau, P., Hattenberger, A.M., Louguet, Y., Toma, B., 2007. Le risque sanitaire lié au sanglier sauvage. Bull. Groupements Tech. Vet. 40, 37-42.
- Jović, S., Djordjević, M., Kulisić, Z., Pavlović, S., Radenković, B., 2001 Infectivity of *Trichinella spiralis* larvae in pork buried in the ground. Parasite. 8, 213-215.
- Kapel, C.M., 2001. Sylvatic and domestic *Trichinella* spp. in wild boars; infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response. J. Parasitol. 87, 309-314.
- Kapel, C.M., Webster, P., Lind, P., Pozio, E., Henriksen, S.A., Murrell, K.D., Nansen, P., 1998. *Trichinella spiralis*, *T. britovi*, and *T. nativa*: infectivity, larval distribution in muscle, and antibody response after experimental infection of pigs. Parasitol. Res. 84, 264-271.
- Kapel, C.M.O., Webster, P., Gamble, H.R., 2005. Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals wildlife. Vet. Parasitol. 132, 101-105.
- Nöckler, K., Pally, R., Dedek, J., Voigt, W.P., Miko, A., Schuster, R., 1999. Untersuchungen zum Vorkommen von *Trichinella* spp. beim Schwarzwild in Mecklenburg-Vorpommern mit dem indirekten ELISA und der Verdauungsmethode (Investigations on *Trichinella* prevalence in wild boars in Mecklenburg-Vorpommern using indirect ELISA and digestion method). Tagungsband der DVG, Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten", Thema: Neuere Methoden und Ergebnisse zur Epidemiologie von Parasitosen, 10-12/03/99 in Hannover, 102-112.
- Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J., Protz, D., Rehmet, S., Sinn, G., Ammon, A., 2001. Aspects of clinical features, diagnosis, notification and tracing back referring to *Trichinella* outbreaks in north Rhine-Westphalia, Germany, 1998. Parasite. 8, S183-185.

- Nöckler, K., Serrano, F.J., Boireau, P., Kapel, C.M.O., Pozio, E., 2005. Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. *Vet. Parasitol.* 132 85-90.
- Perez-Martin, J.E., Serrano, F.J., Reina, D., Mora, J.A., Navarrete, I., 2000. Sylvatic Trichinellosis in SouthWestern Spain. *J. Wildl. Dis.* 36, 531-534.
- Pozio, E., Cossu, P., Marucci, G., Amati, M., Ludovisi, A., Morales, M.A.G., La Rosa, G., Firinu, T., 2009a. The birth of a *Trichinella britovi* focus on the Mediterranean island of Sardinia (Italy). *Vet. Parasitol.* 159, 361-363.
- Pozio, E., Rinaldi, L., Marucci, G., Musella, V., Galati, F., Cringoli, G., Boireau, P., La Rosa, G., 2009b. Hosts and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe. *Int. J. Parasitol.* 39, 71-79.
- R Development Core Team, 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing, <http://www.R-project.org>.
- Rafter, P., Maruccib, G., Brangana, P., Pozio, E., 2005. Rediscovery of *Trichinella spiralis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland after 30 years of oblivion. *J. Infect.* 50, 61-65.
- Rodriguez de las Parras, E., Rodriguez-Ferrer, M., Nieto-Martinez, J., Ubeira, F.M., Garate-Ormaechea, T., 2004. Trichinellosis outbreaks in Spain (1990-2001). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22, 70-76.
- Rossi, L., Pozio, E., Mignone, W., Ercolini, C., Dini, V., 1992. Epidemiology of sylvatic trichinellosis in north-western Italy. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 11, 1039-1046.
- Takumi, K., Teunis, P., Fonville, M., Vallee, I., Boireau, P., Nöckler, K., van der Giessen, J., 2009. Transmission risk of human trichinellosis. *Vet. Parasitol.* 159, 324-327.
- Vallat, B., 2008. Trichinellosis. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (6th ed.). Office International des Epizooties (World organization for Animal Health), Paris, http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2002.2001.2016_TRICHINELLOSIS.pdf pp.
- van der Giessen, J.W., Rombout, Y., Franchimont, H.J., La Rosa, G., Pozio, E., 1998. *Trichinella britovi* in foxes in The Netherlands. *J. Parasitol.* 84, 1065-1068.
- Zhang, J.S., Tang, J.H., Gao, F.N., 1993. A comparative study of two geographical isolates of *Trichinella* to mice. In: Campbell, W.C, Pozio, E., Bruschi, F., (Eds), *Proceedings of the eighth International Conference on Trichinellosis*. Rome, Italy, 147-152.

II.3. Discussion et conclusions

II.3.1. Détection directe de la trichinellose et méthode de digestion artificielle

Parmi les 1881 sangliers testés en Corse, aucune larve de *Trichinella* n'a été détectée par la méthode de digestion artificielle.

La méthode de digestion artificielle est très spécifique : une fois détectée, la larve est dans un premier temps identifiée sur la base de critères morphologiques (identification du genre *Trichinella*). Dans un second temps, cette identification est confirmée au LNR par analyse moléculaire. En revanche, la sensibilité de cette méthode est de 0,2 larve par gramme (digestion pepsique de 5 g de muscles par sanglier). Les larves ne seront donc pas détectées si un sanglier est infesté à une charge parasitaire inférieure à ce seuil. La charge parasitaire chez un hôte donné est liée à la capacité infectieuse, c'est-à-dire la capacité de la souche de *Trichinella* à se multiplier chez cet hôte (Gamito-Santos *et al.*, 2009). Or la capacité infectieuse est fonction du génotype de *Trichinella* considéré (Kapel, 2001), et il semble notamment que, chez le sanglier, la capacité infectieuse de *T. britovi* soit plus faible que celle de *T. spiralis* (Kapel, 2001 ; Gamitos-Santos *et al.*, 2009). Nous ne pouvons donc pas exclure que la souche corse de *T. britovi*, détectée en 2004 lors du foyer porcine et vulpine, soit effectivement peu infectieuse chez le sanglier, et soit présente à faible charge parasitaire dans la population de sangliers insulaires.

Nous n'avons pas non plus détecté de larve chez les renards testés ; le renard étant pourtant un bon indicateur de la présence d'un cycle sauvage établi (Pozio *et al.*, 2009b). Cependant, la taille de notre échantillon, trop faible en dépit de l'objectif d'échantillonnage initialement fixé et des efforts déployés sur le terrain pour obtenir des spécimens, ne nous permet pas de conclure aujourd'hui à l'absence certaine de trichinellose dans cette espèce. Le trop faible nombre d'animaux échantillonnés dans la zone du foyer de 2004 reste notamment une des faiblesses de notre étude. A l'échelle de la Corse, ce résultat permet en revanche de conclure en une prévalence parasitaire chez le renard inférieure à 4,86% (borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%).

II.3.2. Exposition des sangliers à la trichinellose et test sérologique

II.3.2.1. Seuil de positivité du test ELISA

En utilisant les seuils du test ELISA fournis par le fabricant (Institut Pourquier), nous mettons en évidence que 2% des sangliers testés sont séropositifs. Cette valeur de prévalence est conditionnée par le choix du seuil de positivité. Chez le sanglier le seuil de positivité du

test ELISA Pourquier a été établi à l'aide des résultats sérologiques obtenus sur une cohorte de sangliers négatifs en recherche directe de larves et comparés à des résultats sur sérums de témoins positifs. Ce seuil, fixé à 100% chez le sanglier pour permettre d'exclure les animaux faussement positifs (réactions croisées avec des antigènes d'autres helminthes notamment), est ensuite comparé au pourcentage appelé E/P%, calculé comme le ratio de la densité optique (DO) à 450nm de l'échantillon (E) sur celle du témoin positif (P). Pour mémoire, chez le porc le seuil de séropositivité est fixé à 40% avec ce même test ELISA.

Les résultats obtenus en Corse sont difficilement comparables à ceux obtenus dans les précédentes études chez le sanglier en Europe utilisant le même test ELISA (antigène E/S) (P1-II.3.1). En effet, soit nous n'avons pas accès à la méthode d'interprétation utilisée (Nöckler *et al.*, 1999; van der Giessen *et al.*, 2001), soit cette méthode d'interprétation est différente de celle que nous avons utilisée : Gottstein *et al.* (1997) considèrent un échantillon séropositif lorsque l'équation $[(DO_{405} \text{ sérum testé} - DO_{405} \text{ témoin négatif}) / (DO_{405} \text{ témoin positif} - DO_{405} \text{ témoin négatif})] \times 100$ est supérieure à 0 (avec DO405, la densité optique à 405 nm) (Gottstein *et al.*, 1997). De fait, nous ne pouvons par exemple pas comparer les seuils de positivité utilisés.

La question du choix des seuils de positivité pour l'analyse de données sérologiques chez l'animal sauvage nous paraît pourtant cruciale. En effet, les tests sérologiques concernant ici la trichinellose ont été développés chez l'animal domestique, puis transposés à l'animal sauvage sans validation, notamment par des schémas expérimentaux. Par ailleurs, compte tenu de la spécificité du test ELISA utilisé (98 %), l'hypothèse que les individus considérés comme séropositifs (2%) soient des faux-positifs est plausible. Ce d'autant plus que les suidés sauvages sont généralement considérés comme plus parasités que leurs homologues domestiques et que le test ELISA sous sa forme actuelle utilise en fait un mélange d'antigènes excréteur/sécréteur. Ces deux facteurs pouvant engendrer davantage de réactions croisées.

Chez le Porc, le Cheval et l'Homme, la méthode Western blot est généralement conseillée pour confirmer la séropositivité obtenue par ELISA (Frey *et al.*, 2009). Cependant cette méthode sérologique n'a pas été validée pour la faune sauvage. Utilisant aussi l'antigène E/S, elle n'a de fait pas permis de discriminer dans notre étude les faux-positifs des vrais-positifs, les profils obtenus par Western blot étant identiques à ceux obtenus par ELISA.

II.3.2.1. L'approche statistique : une alternative ?

Dans un récent article, Teunis *et al.* (2009) développent une méthode mathématique pour déterminer la séroprévalence de trichinellose chez les porcs aux Pays-Bas : ils posent tout d'abord l'hypothèse de l'existence de deux sous-populations au sein des animaux testés, une sous-population d'animaux non-infestés séronégatifs et une autre d'animaux infestés séropositifs. Ensuite ils estiment les paramètres de deux-sous populations théoriques à l'aide d'une méthode bayésienne. Enfin ils comparent la fonction de répartition des densités optiques des échantillons à une distribution gaussienne bi-modale pour déterminer la séroprévalence apparente de l'échantillon (Teunis *et al.*, 2009).

Nous avons appliqué cette méthode statistique à notre jeu de données. Ce travail a été développé avec l'aide de Marie-Laure Delignette, biostatisticienne à l'Université – Ecole Vétérinaire de Lyon. Le détail de la méthode utilisée est présenté à l'annexe 3. Les résultats obtenus indiquent une séroprévalence apparente beaucoup plus élevée que précédemment, comprise entre 40,9% et 45,9 % (intervalle de confiance à 95%). Les échantillons alors considérés comme séropositifs seraient répartis sur toute l'île, avec toutefois des régions de plus fortes exposition des sangliers à l'ingestion de parasite (cf. *Results* en annexe 3, p.190).

II.3.3. Le sanglier et la trichinellose en Corse : avancées et perspectives

II.3.3.1. Présence et prévalence de la trichinellose

Les sangliers testés ne présentaient pas de larves musculaires enkystées (à une charge parasitaire supérieure ou égale au seuil de détection de la méthode, voir ci-dessus). Ils ont toutefois développé une réponse sérologique, a priori en réponse à une exposition au parasite. Sous cette hypothèse, après ingestion de larves, ils auraient éliminé celles-ci sans permettre la reproduction et l'établissement du parasite (ou bien sa reproduction massive). Ce type de séroconversion sans établissement de larves a été démontré chez le porc, le sanglier et le rat (Kapel and Gamble, 2000; Kapel, 2001; Malakauskas *et al.*, 2001). Certains résultats, non-encore publiés, de l'expérimentation TrichiCorse, mettent aussi en évidence ce phénomène : dans cette expérimentation, 7 des 14 porcs infestés à forte dose (20 000 larves) par voie orale par la souche corse de *Trichinella britovi* ont présenté une réaction sérologique très forte sans qu'aucune larve n'ait ensuite été retrouvée dans aucun des muscles de la carcasse (Lacour, com. pers.). La présence du parasite circulant dans la faune sauvage ne peut donc pas être exclue.

Parallèlement l'incohérence entre les résultats obtenus grâce au seuil proposé par le fabricant et par la méthode statistique soulève des questions majeures qui demandent à être

éclaircies avant de pouvoir valider la méthode mathématique et les résultats obtenus : si effectivement autant de sangliers sont exposés à la trichinellose sur l'île, pourquoi aucune larve n'a pu être retrouvée dans les muscles électifs des 658 animaux considérés comme exposés au parasite ? Autant l'hypothèse de séroconversion sans reproduction de larves chez l'hôte est recevable pour quelques individus (précédemment 2%), autant cette hypothèse est beaucoup plus difficilement admissible pour autant d'individus. Dans tous les cas, elle demande à être confirmée pour pouvoir présenter la très forte séroprévalence apparente obtenue par analyse statistique. Par ailleurs, comment expliquer qu'un cycle sauvage se maintienne aussi massivement sans que le sanglier, ou le renard ne soit réservoir ? Le Renard est en effet une espèce considérée comme clé dans le cycle sylvatique de *Trichinella britovi* (Pozio *et al.*, 2009b). Dans l'hypothèse d'une large présence du parasite sur l'île, il est alors étonnant que nous n'ayons pas non plus retrouvé de larves chez les renards testés (cf. P2-II.2, p.93), prélevés y compris dans les régions d'apparente forte exposition du sanglier d'après la méthode statistique (Fig. 4, annexe 3). Existerait-il alors une autre espèce-clé capable de maintenir le parasite sur l'ensemble du territoire insulaire ? La seule autre espèce pouvant intervenir dans le cycle sauvage de *Trichinella* et présente en Corse est le rat (P1-II.3.1, Fig. 5). Or, le rôle de cette espèce comme hôte réservoir est encore actuellement largement controversé (cf. P1-II.3.2.1, p.42).

Finalement aucune des deux méthodes développées dans notre étude (western blot, approche statistique) ne permet de confirmer parfaitement les résultats sérologiques obtenus chez les sangliers en Corse par la méthode ELISA. Ce test indique un signal qui a probablement un sens biologique, l'approche statistique indiquant que le signal est très présent dans la population. Mais ce phénomène pourrait être le fait de réactions faussement positives au test dues à des parasites rares en élevage porcin mais plus fréquents dans les populations de suidés sauvages.

En l'état actuel des résultats, de nouvelles questions épidémiologiques concernant la trichinellose en Corse sont soulevées et celles initialement posées ne peuvent donc pas être résolues.

II.3.3.2. Risque zoonotique de trichinellose

Malgré l'absence de conclusions épidémiologiques, le risque zoonotique de trichinellose par consommation de viande de sanglier doit donc être considéré comme plausible sur l'île. L'estimation quantitative de ce risque est actuellement impossible, compte tenu en premier lieu des nouvelles questions soulevées ci-dessus concernant l'exposition au

danger parasitaire des sangliers, source d'infestation pour l'Homme. Par ailleurs, une meilleure connaissance des pratiques locales de conservation et de préparation des viandes de gibier serait utile pour pouvoir estimer l'exposition au risque de la population humaine.

II.3.3.3. Gestion du risque zoonotique

Indépendamment d'une évaluation chiffrée du risque zoonotique, deux conclusions majeures en termes de gestion du risque se dégagent de notre étude. Premièrement les consignes de cuisson de la viande doivent être rappelées et le test des viandes commercialisées incité une nouvelle fois. Deuxièmement les pratiques de chasse où les viscères de sangliers dépecés sont rejetés dans l'environnement, à la disposition des carnivores sauvages, devraient être proscrites. La difficulté évidente dans notre contexte d'étude demeure l'application effective de ces mesures de prévention. Nous reviendrons sur ces questions dans la discussion générale de notre travail.

II.3.3.4. Conclusions

Les réflexions exposées dans les chapitres précédents soulignent que les questions épidémiologiques concernant la trichinellose et les sangliers sont finalement indissociables de questions méthodologiques et diagnostiques. Le développement d'outils de détection du parasite plus sensibles ou de tests sérologiques plus spécifiques et applicables à la faune sauvage apparaît donc fondamental. C'est pourquoi des travaux complémentaires sont en projet au LNR *des parasites transmis par les aliments* de l'AFSSA avec pour objectif notamment de mettre au point un test sérologique pour la faune sauvage utilisant un antigène plus spécifique (cet antigène ayant été d'ores et déjà extrait au LNR). La perspective d'une infestation expérimentale de sanglier serait par ailleurs intéressante pour mieux comprendre la réponse immunitaire de l'espèce sauvage à l'infestation et permettre la validation des tests sérologiques. Ce projet est aussi à l'étude par le LNR, mais, compte tenu des exigences en moyens humains, logistiques et financiers d'une telle expérimentation, il ne pourra dans le meilleur des cas être envisagé qu'à partir de 2010.

En l'absence de méthode 'gold standard' pour la détection de la trichinellose dans la faune sauvage, l'application de méthodes statistiques pourrait s'avérer une alternative intéressante (Teunis *et al.*, 2009; Frey *et al.*, 2009). Cependant son application à des jeux de données d'animaux sauvages où le statut vis-à-vis de la trichinellose des individus échantillonnés serait mieux connu paraît indispensable. Aussi des travaux complémentaires sont là encore nécessaires.

III. La toxoplasmose

III.1. Contexte et objectifs

La toxoplasmose est une zoonose en régression en France, mais qui reste très fréquente. En 2003, les résultats de l'enquête nationale périnatale indiquaient une prévalence de la toxoplasmose chez les femmes en âge de procréer de 39,9 % en Corse (Berger *et al.*, 2008). Cette prévalence, standardisée sur l'âge, était alors inférieure à la prévalence nationale mais plus élevée que dans les pays du nord de l'Europe. A notre connaissance, aucune autre donnée permettant d'évaluer le risque général de toxoplasmose, et en particulier celui lié à la consommation de viande, mode de contamination actuellement considéré comme majeur (Cook *et al.*, 2000), n'était disponible avant notre étude.

A l'instar de l'enquête en abattoir menée sur le continent (Halos *et al.*, 2009), le CNR Toxoplasmose en lien avec le laboratoire BIPAR de l'AFSSA envisage de mener une étude en Corse permettant d'approcher le risque lié à la consommation de viande d'animaux d'élevage (brebis et porc essentiellement).

Dans l'étude présentée ici, nous nous proposons d'éclaircir des questions concernant le risque lié au cycle sauvage du toxoplasme et à la consommation de viande de gibier :

1. Quelles sont les souches circulantes chez les espèces sauvages en Corse ? Ces souches de *Toxoplasma gondii* sont-elles endémiques à l'île ou bien sont-elles semblables à celles déjà identifiées chez l'Homme en Europe comme responsables de cas cliniques (P1-II.3.3.2.a) ?

2. Quelle est la prévalence de la toxoplasmose dans les populations de suidés sauvages de l'île ? L'exposition au parasite des sangliers est-elle homogène sur le territoire corse ? Si non, quels sont les facteurs associés à une plus forte exposition ? Quelles en sont les conséquences en termes de risque zoonotique ?

Traitant respectivement de ces deux questionnements, deux études complémentaires ont été organisées en s'appuyant sur le dispositif mis en place dans le cadre du programme BioScope : une étude d'épidémiologie moléculaire visant à caractériser génétiquement la (ou les) souche(s) de *T. gondii* circulant dans la faune sauvage, et une étude épidémiologique visant à rechercher les facteurs de risque de l'exposition à la toxoplasmose des sangliers .

L'étude d'épidémiologie moléculaire a été conduite en collaboration avec le CNR Toxoplasmose : l'isolement des souches et un premier génotypage ont été réalisés par l'équipe de Reims, et le typage micro-satellite des souches par l'équipe de Limoges.

Intéressant directement notre problématique de thèse, les travaux concernant les souches de *T. gondii* circulant chez les sangliers en Corse publiés dans l'article ci-après seront présentés au chapitre P2-III.2 :

Richomme C., Aubert D., Gilot-Fromont E., Ajzenberg D., Mercier A., Ducrot C., Ferté H., Delorme D., and I. Villena. **Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France.** *Veterinary Parasitology*, 164 (2-4): 296-300.

Intégrés à un article soumis à ce même journal, les résultats de caractérisation de souches chez le renard en Corse intéressent moins directement la problématique de notre thèse et sont présentés en annexe (annexe 4) :

Aubert D., Ajzenberg D., Richomme C., Gilot-Fromont E., Terrier ME. , de Gevigney C., Game Y., Maillard D., Gibert P., Dardé ML., and I Villena. **Molecular and biological characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France.** Soumis à *Veterinary Parasitology*.

Enfin, les travaux d'épidémiologie analytique ont été conduits en collaboration avec l'équipe toxoplasmose de l'AFSSA Maisons-Alfort (analyse sérologique) et l'équipe Biologie et Ecologie évolutive des populations (UMR CNRS 5558). Ils font l'objet d'un article soumis au journal *Epidemiology and Infection* (cf. P2-III.3., p.119) :

Richomme C., Afonso E., Tolon V., Ducrot C., Halos L., Alliot A., Perret C., Thomas M., Boireau P., and E. Gilot-Fromont. **Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean island.** Soumis à *Epidemiology and Infection*.

III.2. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France

C. Richomme^{a,b}, D. Aubert^{c,d}, E. Gilot-Fromont^{e,*}, D. Ajzenberg^{f,g}, A. Mercier^g, C. Ducrot^a,
H. Ferté^h, D. Delormeⁱ and I. Villena^{c,d}

^a INRA, UR 346, *Epidémiologie animale, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand, site de Theix, F-63122 Saint Genes Champanelle, France*

^b INRA, UR 45, *Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Elevage, Quartier Grossetti, F-20250 Corte, France*

^c EA 3800, IFR53, *45 Rue Cognacq Jay, F-51092 Reims, France*

^d *Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / Toxoplasma Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire de Reims, F-51092 Reims, France*

^e *Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, 43 boulevard du 11 novembre 1918, F-69622 Villeurbanne, France ; Université de Lyon, Ecole Nationale Vétérinaire, 1 Avenue Bourgelat, F-69280, France*

^f *Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / Toxoplasma Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire Dupuytren, F-87042 Limoges, France*

^g *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3174-NETEC, Faculté de Médecine, Université de Limoges, F-87025 Limoges, France*

^h *JE 2533 – USC AFSSA « VECPAR », UFR de Pharmacie, Université de Reims Champagne – Ardenne, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims, France*

ⁱ *Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Centre National d'Etudes et de Recherche Appliquée Cervidés-Sangliers, 1 Place Exelmans, 55000 Bar-le-Duc, France*

* Corresponding author at: Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, 43 boulevard du 11 novembre 1918, F-69622 Villeurbanne, France. Tel.: +33 4 72 44 80 18; fax: +33 4 72 43 13 88.

E-mail address: e.gilot@vet-lyon.fr (E. Gilot-Fromont).

Veterinary Parasitology, volume 164 (issue 2-4), pages 296-300.

Abstract

Toxoplasma gondii strains isolated from domestic animals and humans have been classified into 3 clonal lineages types I-III, with differences in terms of pathogenicity to mice. Much less is known on *T. gondii* genotypes in wild animals. In this report, genotypes of *T. gondii* isolated from wild boar (*Sus scrofa*) in France are described. During the hunting seasons 2002-2008, sera and tissues of individuals from two French regions, one continental and one insular, were tested for *Toxoplasma* infection. Antibodies to *T. gondii* were found in 26 (17.6%) of 148 wild boars using the modified agglutination test (MAT, positivity threshold: 1:24). Seroprevalence was 45.9% when considering a threshold of 1:6. Hearts of individuals with a positive agglutination (starting dilution 1:6) (n = 60) were bioassayed in mice for isolation of viable *T. gondii*. In total, 21 isolates of *T. gondii* were obtained. Genotyping of the isolates using 3 PCR–restriction fragment length polymorphism markers (*SAG1*, *SAG2* and *GRA7*) and 6 microsatellite loci analysis (*TUB2*, *TgM-A*, *W35*, *B17*, *B18* and *M33*) revealed that all belonged to type II lineage. These results underline that wild boar may serve as an important reservoir for transmission of *T. gondii*, and that strains present in wildlife may not be different from strains from the domestic environment.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; Wild boar; *Sus scrofa*; Genotype; Bioassay; PCR–RFLP; Microsatellite; France.

1. Introduction

The protozoan *Toxoplasma gondii* is a worldwide distributed and obligate intracellular parasite which infects humans and a variety of birds and mammals (Dubey and Beattie, 1988; Tenter *et al.*, 2000). The majority of *T. gondii* isolates from North America and Europe has been classified into three clonal lineages, named type I, II and III (Sibley and Boothroyd, 1992; Howe and Sibley, 1995). Detailed genetic analysis of each type shows that within-type variation is rare (Grigg *et al.*, 2001), except at the highly polymorphic microsatellite makers (Blackston *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2002a). In mice, type I strains are considered as virulent, and types II and III as relatively non-virulent. The different studies conducted in humans and domestic animals in France showed a large predominance of only one genotype, type II (Ajzenberg *et al.*, 2002b; Dumètre *et al.*, 2006).

Little is known on the distribution of genotypes of *T. gondii* and on its prevalence in wildlife populations (Dubey *et al.*, 2004a ; Dubey *et al.*, 2004b; Dubey *et al.*, 2007b; Aubert *et al.*, 2008). Moreover, even if acute toxoplasmosis has already been reported in hunters who had consumed uncooked infected meat from wild boar (Choi *et al.*, 1997), little information is available on the risk associated with consumption of wild game meat and on which strains are associated with it. In France, the European wild boar is widely distributed: between 450, 000 and 500,000 individuals are hunted each year (Saint-Andrieux and Barboiron, 2009) and meat is consumed by hunters themselves but also distributed locally. In the present study, the seroprevalence of *T. gondii* antibodies in hunted wild boar was investigated in two regions of France and parasite isolation was attempted from seropositive individuals. Isolates were genetically characterized by PCR-RFLP and multilocus microsatellite analysis.

2. Materials and methods

2.1. Wild boar sampling

Animals originated from two distinct regions of France: the Region Champagne-Ardenne (25,606 km²), in the North-East of the continental France (49°0'N, 4°30'E), and Corsica (8,680 km²), a Mediterranean island (42°9'N, 9°5'E). The climate is continental in Champagne-Ardenne and Mediterranean in Corsica, with annual precipitations nearly equivalent in the two regions (Reims - Champagne-Ardenne 617.8mm; Ajaccio- Corsica

639.3mm. Annual means, Meteo France® Data), but minimal and maximal mean annual temperatures higher in Corsica than in Champagne-Ardenne (respectively, 10 - 20.1°C, 5.8 - 14.7°C). In Champagne-Ardenne, 90% of the sampled animals lived in fenced deciduous forests (Belval private parks and Trois-Fontaines forest); the other 10% were hunted in non-fenced forested plain. In Corsica, all samples came from hunted free wild boar, living in “maquis” (xerophylle vegetation) and non-deciduous mountain forest.

Animals were sampled during the hunting seasons from 2002 to 2007 in Champagne-Ardenne, and during the hunting season 2007-2008 in Corsica, thanks to some hunters and the opportunities of collecting biological material from other research or surveillance programs.

Blood samples from hunted animals were collected from the heart or the thoracic cavity using a syringe. Hearts were collected and placed into a plastic container with sterile saline (0.9% [w/v] NaCl) containing 120 U/mL penicillin-G and 120 µg/mL streptomycin. Hearts and sera were kept refrigerated (4°C) during 1 to 5 days and transported to the laboratory of the National Reference Centre for toxoplasmosis in Reims, France. Age, gender and place of hunting were recorded for each animal. Age was determined based on coat colour and estimated body weight, and each individual was classified either as juvenile (0–1 year) or adult (>1 year).

2.2. Serologic examination

Fluid samples were tested for antibodies to *T.gondii* with the modified agglutination test (MAT) as previously described (Dubey and Desmonts, 1987). MAT is the most sensitive and specific test for the serodiagnosis of toxoplasmosis in swine (Dubey, 1997b). Sera were diluted two-fold starting at a 1:6 dilution and screened until a dilution of 1:12,800. Positive and negative controls were included in each test. In accordance with previous studies, sera with an agglutination titer of 1:24 or higher were first considered as positive. We also estimated seroprevalence using threshold a titer of 1:6 because individuals with low titers often revealed infection (see results).

2.3. Bioassay for T. gondii infection

Hearts of individuals with a agglutination reaction (starting at a 1:6 dilution) were bioassayed in outbred female Swiss Webster mice (Charles River Laboratory, France) (Villena *et al.*, 2004). All mice were first confirmed to be seronegative for *T. gondii*. Whole heart, or 200 g of heart was mixed and incubated at 37°C during 2.5 hours with trypsin (final concentration 0.25%). The suspension was then filtered, centrifuged, washed and suspended in saline solution containing penicillin G and streptomycin. The homogenate was inoculated intraperitoneally to 3 to 6 mice, depending on the volume of the centrifugation pellet. Mice were tested for seroconversion with the MAT (1:24 dilution) 4 weeks postinoculation (pi) and finally sacrificed 60 days pi. Tissue cysts in brains of seropositive mice were detected by microscopic examination.

2.4. Genetic characterisation for T. gondii

Brain cysts from seropositive mice were isolated by percoll gradient centrifugation and DNA was extracted using a QIAamp DNA minikit (Qiagen, Courtaboeuf, France). Strain typing was performed using three PCR–restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers (*SAG1*, *SAG2*, *GRA7*). Genetic characterization was also performed at six microsatellite loci in a multiplex PCR assay (TUB2, Tg M-A, W35, B17, B18 and M33) (Ajzenberg *et al.*, 2005; Dubey *et al.*, 2007a).

2.5. Statistical analysis

Seroprevalence was estimated using both 1:24 and 1:6 thresholds, and its 95% confidence interval was calculated. Comparisons of gender and age distributions in the 2 regions were

performed using Chi-squared tests. In order to compare seroprevalence in the two regions, age-adjusted seroprevalences were calculated (Dohoo *et al.*, 2003). All analyses were performed using R (R Development Core Team, 2008). The differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

3. Results

A total of 148 wild boars were sampled, 104 in Champagne-Ardenne and 44 in Corsica. Age and gender were available for 131 samples. The demographic structure of the samples differed, with more juveniles than adults in the Champagne-Ardenne (49 versus 38), and reverse structure in Corsica (6 juveniles, 38 adults) (Chi-square test, $p < 0.001$). The sex-ratio for the 2 areas was not statistically different (Champagne-Ardenne 1.4 males/female versus Corsica 1.2, Chi-square test, $p = 0.796$).

Antibodies to *T. gondii* (MAT, titer $\geq 1:24$) were found in 26 of the 148 animals, indicating an overall seroprevalence of 17.6% (95% C.I.: 11.5% - 23.7%) at threshold 1:24. Considering a threshold titer of 1:6, seroprevalence was 45.9% (95% C.I.: 37.9%-54.0%). Titer of *T. gondii* antibodies and details per age class for each sampling region are shown in table 1. After adjusting on age, seroprevalences in Champagne-Ardenne (20.1 ± 8.67 %) and in Corsica (13.1 ± 13.8 %) were not significantly different ($p = 0.477$).

Table 1. Age-adjusted serorevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and agglutination titers obtained by MAT in wild boars from Champagne-Ardenne and Corsica, France.

Animals	No. sampled	MAT agglutination titer				Total positive	Positive ^a /tested		Prevalence (%) ^b ± SE 95% CI
		0	6	12	$\geq 24^c$		Juvenile	Adult	
Champagne-Ardenne	104	55	8	20	21	21	11/49	7/38	20.1 ± 8.7
Corsica	44	25	6	8	5	5	1/6	4/38	13.1 ± 13.8
France (Overall)	148	80	14	28	26	26	12/55	11/76	17.6 ± 6.1

^a MAT ≥ 24

^b Prevalence standardised on age

^c Maximal titer observed: 3200

Among the 68 hearts from individuals with MAT titers of 1:6 or higher, 60 were bioassayed in mice. Sixteen bioassays were not conclusive because none of the mice survived after 48h pi. *Toxoplasma gondii* was isolated from 21 of the 44 remaining hearts (47.7%, table 2). Noteworthy, for 22 samples from Champagne-Ardenne, one of the inoculated mice died of presumed bacterial infections during the first 3 days pi, in spite of additional antibiotic treatment; these mice were not examined for *T. gondii* infection. Mortality in mice due to a virulent strain usually occurs after 7 days pi (Dubey *et al.*, 2008). Thus, here, all mice mortalities were attributed to bacterial infections, which are frequent with samples from wild species (Aubert, pers. comm.). The parasite was isolated from 11 (45.8 %) of 24 individuals with MAT titer of 1:6 and 1:12, and from 10 of 20 (50.0 %) with titer of 1:24 or higher. Genotyping of the 21 *T. gondii* isolates using the 3 PCR-RFLP markers and the 6 microsatellite markers revealed a type II genotype for all isolates (table 2).

Table 2. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolated in wild boars from Champagne-Ardenne and Corsica, France.

Animals	No. sampled	No. seropositive ^a	No. bioassayed ^b (analysed ^c)	Isolates (% ^d)	Genotype
Champagne-Ardenne	104	49	41 (26)	13 (50.0)	II
Corsica	44	19	19 (18)	8 (44.4)	II
France (Overall)	148	68	60 (44)	21 (47.7)	II

^a Starting at a 1:6 dilution

^b 8 hearts were not bioassayed because of technical reasons

^c 16 bioassays were not analysed for cysts detection because all mice died between day 1 and 3 pi (15 from Champagne-Ardennes, 1 from Corsica)

^d Isolates/ number analysed

4. Discussion

The MAT titers of 1:20 to 1:25 have been validated to detect IgG antibodies to *T. gondii* in sera of domestic pigs (Dubey *et al.*, 1995). Using this cut-off, we found antibodies in 17.6% of the tested wild boars. However, individuals with an agglutination titer lower than 1:25 actually carried *Toxoplasma* cysts. These results raise the question of the choice of the cut-off when interpreting a serological test, especially in wildlife when using results from tests developed for domestic species. Here, we advocate that 1:6 is a biologically relevant threshold since many individuals with 1:6 titer actually carried *Toxoplasma* cysts. None of the samples without agglutination reaction were bio-assayed, because a previous study in sheep showed that none of 307 seronegative samples revealed infection at bioassay (Halos *et al.*, 2008). However, given the low level of antibodies in some individuals, seronegative individuals may be bioassayed, or serological tests could be performed using lower dilutions.

Even if our sample is not representative of the national situation, our results indicate a high level of exposure of *T. gondii* among wild boar, both in a continental and an insular region of France. Several previous studies already showed that toxoplasmosis is common in wild boars in Europe: seroprevalence was estimated at 19% in Austria (indirect immuno-fluorescence test, n = 269, Edelhofer *et al.*, 1996), 15% in the Czech Republic (Dye Test, threshold 1:4, n = 124, Hejlíček *et al.*, 1997) or 26.2% (indirect fluorescence antibody test, n = 565, Bártová *et al.*, 2006) in the Czech Republic and 8.1% in the Slovak Republic (commercial ELISA, n = 320, Antolová *et al.*, 2007). Most of these seroprevalences fall in the range of values of our study (17.6 % - 45.9 % depending on the threshold used). However, they are not always comparable since distinct methods or thresholds are used. The only studies considering MAT 1:25 found antibodies to *T. gondii* in wild boar in 31% and 37% (n = 108 and 149, Diderrich *et al.*, 1996) and in 18% (n = 174, Dubey *et al.*, 1997), in the U.S.A., and in 38.4% in Spain (n = 507, Gauss *et al.*, 2005). In this last study, the authors noted strong variations among sampling sites, probably associated with variation in contamination of the environment by cats, different climatic conditions that may have affected the survival of oocysts, management and population densities of wild boar. Here, in two regions comparable for rainfall but different in their temperatures and vegetation, seroprevalences were non-significantly different.

All isolates were found to belong to the type II lineage. In France, type II is largely predominant in human congenital toxoplasmosis (Ajzenberg *et al.*, 2002b). Moreover, only type II strains have been isolated from domestic animals (Dumètre *et al.*, 2006) or wild birds (Aubert *et al.*, 2008). Due to the low number and non-representative geographic distribution of samples analyzed, we can not preclude the hypothesis that other genotypes are also present in wildlife in France. However, genotype II is probably dominant in wild boar, thus no specific strain is expected if transmission from wild boar to humans occurs.

Consumption of raw or undercooked meat is the main route of infection in humans in Europe, representing 30 to 63% of infections depending on the country considered (Cook *et al.*, 2000). Specifically, pork meat was considered as one of the major sources (Dubey and Beattie, 1988). Over the last two decades, however, infection in pigs decreased notably with changes in pig production and management (Tenter *et al.*, 2000), which raise all the more the question of the role of other species, including game, as sources of human infection. Traditionally, wild boar meat is consumed after a long cooking, which kills tissue cysts (Dubey, 2000). But food habits tend to change with consumption of raw meat (barbecue). Specifically, in Corsica, raw and salted pork meats products (“salsiccia”, “figatelli”) are traditionally prepared, and can contain wild boar meat (Casabianca, 1996). The curing of meat does not affect the parasite immediately and the survival time of tissue cysts varies with the concentration of the salt solution and the temperature of storage (Dubey, 1997a). Finally, salting does not kill all tissue cysts in home-made pork sausages (in Tenter *et al.*, 2000). Although the origins of most human infections cannot be documented precisely, acute toxoplasmosis has been reported in hunters after consumption of undercooked meat from wild pigs (Choi *et al.*, 1997). Thus, while prevalence of *T. gondii* in pork meat decreases, wild game meat should not be neglected as a significant and possibly increasing source of toxoplasmosis.

Acknowledgments

We thank the technical staff of ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) of Trois-Fontaines, C. De Gevigney (Parc de Belval), and hunters from Champagne-Ardennes, especially H. Bertrand, and from Corsica, especially O. Maestrini, for their help in obtaining samples. We thank R. Geers and N. Ortis for helpful technical assistance. This work was supported by Programme Bioscope (ANR 05 SEST 048-02) from the French National Research Agency.

References

- Ajzenberg, D., Bañuls, A.-L., Tibayrenc, M., Dardé, M.L., 2002a. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. *Int. J. Parasitol.* 32, 27-38.
- Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, M.H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P., Dardé, M.L., 2002b. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.* 186, 684-689.
- Ajzenberg, D., Dumetre, A., Dardé, M.L., 2005. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 43, 1940-1943.
- Antolová, D., Reiterová, K., Dubinský, P., 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild boars (*Sus scrofa*) in the Slovak republic. *Ann. Agric. Environ. Med.* 14, 71-73.
- Aubert, D., Terrier, M., Dumètre, A., Barrat, J., Villena, I., 2008. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in raptors from France. *J. Wildl. Dis.* 44, 172-173.
- Bártová, E., Sedlák, K., Literák, I., 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 142, 150-153.
- Blackston, C.R., Dubey, J.P., Dotson, E., Su, C., Thulliez, P., Sibley, D., Lehmann, T., 2001. High-resolution typing of *Toxoplasma gondii* using microsatellite loci. *J. Parasitol.* 87, 1472-1475.
- Casabianca, F., 1996. Viandes et Produits de charcuterie. In: Albin Michel (Ed), *Corse, Produits du terroir et recettes traditionnelles*. Conseil National des Arts Culinaires, Inventaire du patrimoine culinaire de la France, Paris, 335 pp.
- Choi, W.Y., Nam, H.W., Kwak, N.H., Huh, W., Kim, Y.R., Kang, M.W., Cho, S.Y., Dubey, J.P., 1997. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.* 175, 1280-1282.
- Cook, A.J., Gilbert, R.E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P.A., Foulon, W., Semprini, A.E., Dunn, D.T., 2000. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on congenital toxoplasmosis. *Br. Med. J.* 321, 142-147.
- Diderrich, V., New, J.C., Noblet, G.P., Patton, S., 1996. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in free-ranging wild hogs (*Sus scrofa*) from the Great Smoky Mountains National Park and from sites in South Carolina. *J. Eukaryot. Microbiol.* 43, 122S.
- Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H., 2003. *Veterinary Epidemiology Research*. Atlantic Veterinary College Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada, 706 pp.

- Dubey, J.P., 1997a. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-208C. *J. Parasitol.* 83, 946-949.
- Dubey, J.P., 1997b. Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. *Vet. Parasitol.* 71, 307-310.
- Dubey, J.P., 2000. The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures. In: P. Ambroise-Thomas & E. Petersen (Eds), *Congenital Toxoplasmosis. Scientific Background, Clinical Management and Control.* Springer-Verlag, Paris, pp. 271-275.
- Dubey, J.P., Beattie, C.P., 1988. *Toxoplasmosis of animals and man*, CRC Press, Boca Raton, Florida Edition, 220 pp.
- Dubey, J.P., Desmots, G., 1987. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Vet. J.* 19, 337-339.
- Dubey, J.P., Graham, D.H., De Young, R.W., Dahl, E., Eberhard, M.L., Nace, E.K., Won, K., Bishop, H., Punkosdy, G., Sreekumar, C., Vianna, M., Shen, S.K., Kwok, O.C., Summers, J.A., Demarais, S., Humphreys, J.G., Lehmann, T., 2004a. Molecular and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. *J. Parasitol.* 90, 67-71.
- Dubey, J.P., López-Torres, H.Y., Sundar, N., Velmurugan, G.V., Ajzenberg, D., Kwok, O.C., Hill, R., Dardé, M.L., Su, C., 2007a. Mouse-virulent *Toxoplasma gondii* isolated from feral cats on Mona Island, Puerto Rico. *J. Parasitol.* 93, 1365-1369.
- Dubey, J.P., Parnell, P.G., Sreekumar, C., Vianna, M.C., De Young, R.W., Dahl, E., Lehmann, T., 2004b. Biologic and molecular characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from striped skunk (*Mephitis mephitis*), Canada goose (*Branta canadensis*), black-winged lory (*Eos cyanogenia*), and cats (*Felis catus*). *J. Parasitol.* 90, 1171-1174.
- Dubey, J.P., Rollor, E.A., Smith, K., Kwok, O.C., Thulliez, P., 1997. Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. *J. Parasitol.* 83, 839-841.
- Dubey, J.P., Sundar, N., Hill, D., Velmurugan, G.V., Bandini, L.A., Kwok, O.C.H., Majumdar, D., Su, C., 2008. High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. *Int. J. Parasitol.* 38, 999-1006.
- Dubey, J.P., Sundar, N., Nolden, C.A., Samuel, M.D., Velmurugan, G.V., Bandini, L.A., Kwok, O.C., Bodenstein, B., Su, C., 2007b. Characterization of *Toxoplasma gondii* from raccoons (*Procyon lotor*), coyotes (*Canis latrans*), and striped skunks (*Mephitis mephitis*) in Wisconsin identified several atypical genotypes. *J. Parasitol.* 93, 1524-1527.
- Dubey, J.P., Thulliez, P., Weigel, R.M., Andrews, C.D., Lind, P., Powell, E.C., 1995. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma-Gondii* infection in naturally infected sows. *AJVR.* 56, 1030-1036.
- Dumètre, A., Ajzenberg, D., Rozette, L., Mercier, A., Dardé, M.L., 2006. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Vet. Parasitol.* 142, 376-379.
- Edelhofer, R., Prosl, H., Kutzer, E., 1996. Trichinellose und toxoplasmose in Wildschwein aus Ost-Österreich. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 83, 225-229.
- Gauss, C.B., Dubey, J.P., Vidal, D., Ruiz, F., Vicente, J., Marco, I., Lavin, S., Gortazar, C., Almeria, S., 2005. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Vet. Parasitol.* 131, 151-156.
- Grigg, M.E., Bonnefoy, S., Hehl, A.B., Suzuki, Y., Boothroyd, J.C., 2001. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science.* 294, 161-165.
- Halos, L., Aubert, D., Thébault, A., Thomas, M., Perret, C., Geers, R., Alliot, A., Durand, B., Boireau, P., Villena, I. 2008. Large scale study of the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in ovine meat for human consumption in France. In EMOP, Xth European Multicollloquium of Parasitology (Paris).
- Hejlíček, K., Líterák, I., Nezval, J., 1997. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *J. Wildl. Dis.* 33, 480-485.
- Howe, D.K., Sibley, L.D., 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J. Infect. Dis.* 172, 1561-1566.
- R Development Core Team, 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing, <http://www.R-project.org>.
- Saint-Andrieux, C., Barboiron, A., 2009. Tableaux de Chasse cerf- chevreuil- sanglier. Saison 2007-2008. Faune Sauvage. 283, 4 p., encart central.
- Sibley, L.D., Boothroyd, J.C., 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature.* 359, 82-85.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217-1258.
- Villena, I., Aubert, D., Gomis, P., Ferté, H., Inglard, J.C., Denis-Bisiaux, H., Dondon, J.M., Pisano, E., Ortis, N., Pinon, J.M., 2004. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4035-4039.

III.3. Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean island

C. RICHOMME^{1,2}, E. AFONSO³, V. TOLON^{4,5}, C. DUCROT¹, L. HALOS⁶, A. ALLIOT⁶,
C. PERRET⁶, M. THOMAS⁶, P. BOIREAU⁶, and E. GILOT-FROMONT^{4,7,*}

¹ INRA, UR 346 Epidémiologie Animale, Theix, F-63122 Saint Genes Champanelle, France

² INRA, UR 45 L.R.DE., F-20250 Corte, France

³ Laboratoire Chrono-environnement, Université de Franche-Comté, UMR CNRS 6249 usc INRA, 1 place Leclerc, F-25030 Besançon cedex

⁴ Université de Lyon, Université Lyon 1, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR 5558, 43 bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France

⁵ Laboratoire d'Ecologie Alpine CNRS UMR5553, Université de Savoie, Bâtiment Belledonne, F-73376 Le Bourget-du-Lac, France

⁶ ENVA/AFSSA/INRA UMR BIPAR, National Reference Laboratory for food-borne parasites, 23 avenue du Général de Gaulle, 94 700 Maisons-Alfort, France

⁷ Université de Lyon, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

Submitted to *Epidemiology and Infection* the 20th august 2009

* Author for correspondence: E. Gilot-Fromont, Université de Lyon, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France.
(E-mail: e.gilot@vet-lyon.fr)

Short running head: *Toxoplasma gondii* infection in wild boar

SUMMARY

The knowledge on the factors affecting the presence of *Toxoplasma gondii* in wildlife is limited. Here we analyze which local landscape characteristics are associated to the presence of toxoplasmosis in wild boar *Sus scrofa* in the island of Corsica, France. Meat juice samples from 1399 wild boars collected during two hunting seasons were tested for *T. gondii* antibodies using the Modified Agglutination Test (titre 1:4). The overall seroprevalence was 0.55 [0.50 – 0.59] for the first year and 0.33 [0.29 – 0.35] for the second year. Seroprevalence varied with age and among counties. At the county scale, seropositivity in adults was related to farm density during year 1, and to habitat fragmentation, farm density and altitude during year 2. The exposure of wild boar to *T. gondii* is thus variable according to landscape characteristics and probably results in a variable risk of transmission of toxoplasmosis to humans.

KEYWORDS

Toxoplasma gondii; wildlife; zoonosis; Modified Agglutination Test; *Sus scrofa*; risk factors, landscape.

INTRODUCTION

Toxoplasmosis is a worldwide zoonosis due to the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. *T. gondii* may infect a wide range of animal species and has a complex life-cycle which involves felids as definitive hosts, many mammals and bird species as intermediate hosts and an environmental stage (oocysts). Approximately one in four people are infected with *T. gondii* [1], and although most infections are asymptomatic, the social and economic impact of toxoplasmosis is estimated to be comparable to that of major foodborne diseases [2]. Severe clinical symptoms occur mainly after mother-to-foetus transmission and in immunocompromised patients when *T. gondii* infection, or reactivation of a latent infection, occurs [3].

Humans may get infected by ingesting either oocysts of *T. gondii*, after contact with contaminated soil, water or raw vegetable, or infective tissue cysts containing bradyzoites, in raw or undercooked infected meat [4]. The relative importance of these two routes of contamination may vary among populations, depending on food habits and geographical location [2]. Therefore, the knowledge of sources of infection for a given population is a pre-requisite for toxoplasmosis risk prevention. Because the parasite may infect any mammalian or bird species, any meat is a potential source of human infection. In particular, the consumption of game has been found as a risk factor of infection for pregnant women [5]. The wild boar (*Sus scrofa*) is a species that entails a particular risk, being one of the leading species consumed, and because individuals are frequently infected [6-10]. Moreover, populations of wild boar have dramatically increased during the three last decades in Europe [11].

Here we study the presence of toxoplasmosis in wild boar in the French Mediterranean island of Corsica, where an increasing wild boar population is also observed [12]. The consumption of hunted wild boar meat is traditionally developed on the island [13]. Moreover, cooking practices are changing (Casabianca, pers. com.), with more barbecue cooking where meat is not fully cooked. However, no data on toxoplasmosis in animals existed for this insular region. In a perspective of risk analysis, the first aim of the present study was to estimate the prevalence of toxoplasmosis in the wild boar population of Corsica.

We also aimed to analyze the local variations of prevalence, since a better knowledge of the conditions affecting the presence of the parasite in wildlife is necessary to better estimate the

risk of toxoplasmosis in human related to game meat consumption. Factors associated with variations of seroprevalence have not been studied in the wild boar. We hypothesized that wild boar acquire toxoplasmosis by rooting and feeding from a soil contaminated with oocysts excreted by cats, as shown for other species with similar behaviour as poultry [14], or by incidentally ingesting infected rodents. We thus expected seroprevalence in wild boar to vary locally according to the concentration of oocysts in the soil used by wild boar, which itself should depend on cat density, the presence of areas where wild boar may be in contact with cat habitat, and oocyst survival. We used farm density as an estimator of cat density, because farms constitute areas where cat groups may grow up due to the presence of prey and shelters [15]. To estimate the probability that a wild boar comes in contact with a soil or rodent contaminated by oocysts from cat faeces, we estimated the density of edges between cat habitat and wild boar habitat using information on land cover. Finally, because oocyst survival depends on local meteorological conditions (precipitation and temperature) [16], we used meteorological data to characterize local physical conditions. We then used these three variables as potential explanatory factors of seropositivity in wild boar.

MATERIALS AND METHODS

Study area and sampling

The study involved the whole Corsica (8 680 km²) (42°9'N, 9°5'E), that is a mountainous island mainly constituted of parallel valleys oriented North-East/ South-West. The mean altitude of the island is 568m, with a culminate point at 2 710m (Monte Cintu). It is constituted of 360 administrative counties ("communes" in French), with areas varying from 0.8 to 203 km² and mean altitude ranging from 19 to 1554m.

In the island, the wild boar's habitat is mainly constituted by sclerophyllous vegetation (*maquis*), non-deciduous (conifers) and mixed mountain forest. More than 20000 wild boars are hunted each year in the whole island [17].

Samples were collected all over the island with the help of volunteer hunters during two consecutive hunting seasons: August 2006 to January 2007 (year 1) and August 2007 to January 2008 (year 2). At curving, hunters removed the diaphragm muscle and placed it into plastic bags. The samples were kept frozen and transported to the National Reference Laboratory for food-borne parasites in Maisons-Alfort (Northern France). For each animal sampled, hunters recorded the county of hunting, gender and age. Age was affected on the basis of the coat colour and estimated body weight.

Serological analysis

Muscle fluid was obtained from 25 g of diaphragm cut into small pieces and frozen overnight at -20°C in a plastic bag. After thawing at room temperature, the meat juice was collected with a pipette into a microtube as previously described [18]. The Modified Agglutination Test (MAT) for the detection of *T. gondii*-specific immunoglobulin (IgG) antibodies was performed as previously described [19].

Muscle fluid samples from year 1 were analyzed using antigen from a commercial kit Toxoscreen® (BioMérieux). Fluids were diluted at titre 1:4, 1:20 and 1:400. Instructions of the manufacturer were followed except the threshold dilution, which was 1:4 and not 1:40 due to the lower concentrations of antibodies in muscle fluids compared to sera [18,20,21]. Samples from year 2 were analyzed using formalin-fixed whole RH tachyzoites as antigen, and fluids were serially diluted two-fold from titre 1:2 until titre 1:128. Formalin-fixed whole RH tachyzoites were provided by the Biological Resource Center for Toxoplasmosis, Laboratoire de Parasitologie, Reims, France. Muscle fluid reactive at titre $\geq 1:4$ were considered indicative of *T. gondii* infection.

A cross-validation test of 120 randomly selected samples was performed in order to determine the agreement between the two MAT tests. The level of agreement was determined using the kappa statistic interpreted according to the usual scale : <0.4: poor agreement, 0.4-0.74: fair agreement, >0.74: good to excellent agreement [22].

Epidemiological analysis

Design of the statistical analysis

We estimated seroprevalence (percentage of seropositive individuals) in wild boar and then search for factors influencing the probability to carry antibodies. The statistical unit was the wild boar.

Since the antigens used in MAT for the two consecutive hunting seasons were different, we analyzed separately the results of years 1 and 2.

We also separated data according to the age class: we defined two age classes, corresponding to juveniles (< 1 year old) and adults (\geq 1 year old), and tested if seroprevalence depended on age using a Pearson Chi-square test. Data were analyzed separately for juveniles and adults because information on each age class brings distinct information. In the wild boar, birth mostly occur in March-May and July-August [23], while hunting occurs from August to January. Juveniles thus provide information on the risk of *T. gondii* infections during the year of capture, while infections in adults cannot be attributed to any particular period. We thus built four models: juveniles/year 1 (n=64), juveniles/year 2 (n=171), adults/year 1 (n=425) and adults/year 2 (n=739).

For each of the four models, we analyzed the relationship between potential explanatory variables and antibody carriage, considered as a binary outcome. Since boars were located at the county scale, values of environmental variables were estimated at the same scale. Thus all individuals hunted in a given county had the same value for environmental variables (see below for the description of the environmental variables considered).

We first tested if seroprevalence varied between counties, using a Log likelihood ratio (G-test) test of independence [24]. As we grouped together individuals from a same county, we also checked that data were not over-dispersed by estimating the dispersion (or scale) parameter of the null model, computed as the residual deviance divided by the degrees of freedom. Then each of the four models was built using a binomial-logistic regression, including all variables and first-order interaction terms between altitude and the two others environmental factors (see below). To select significant variables, we simplified the model using a backward approach based on the Akaike Information Criterion (AIC) [25]. When models had similar AIC values (Δ AIC < 2), we retained the most parsimonious model, *i.e.*, the one with fewest parameters. The overall fit of the final logistic equation was assessed using a Pearson goodness-of-fit test [26]. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were computed to quantify the association between each variable and serological *T. gondii* status. We calculated for each final model the part of inter-county variability explained by the final model using the deviance R-squared [27], computed as the ratio of the null model deviance minus the final model deviance on the null model deviance minus the deviance of the model with counties as explanative factor.

Statistical tests were considered significant if the p-value (*P*) was < 0.05. All statistical analyses were performed using R software [28].

Variables describing landscape at the county level

We obtained estimates at the county level for the three factors that may be involved in the risk of toxoplasmosis in wild boar: farm density, edge density between cat and wild boar habitats, and meteorological conditions.

Farm density

We used farm density as an estimate of cat density because farms are a privileged area for the constitution of large groups of cats. Moreover, farms may serve as reservoirs of toxoplasmosis infection because of the frequent presence of rodents and cats [29], and the high resistance of oocysts in moist and shaded environment of the farm sites [30,31]. We obtained the number of farms per county from the French Ministry of Agriculture (online AGRESTE data, www.agreste.agriculture.gouv.fr). We considered all farms regardless of the precise production involved, and we calculated *farm density* as the ratio of the number of farms on the overall area of the county. We expected seroprevalence to increase with farm density.

Edge index between wild boar and cat habitats

In order to calculate an index corresponding to the density of ecotone - or edge - between wild boar and cat habitats, we used the Corine Land Cover (CLC) map (IFEN® data) with a resolution of 0.25 km². The CLC classifies land cover and use into 44 classes. We grouped these 44 CLC classes into five categories to characterize the landscape opening and urbanization: forests, mid-open areas (*maquis*, moors and heathland, transitional woodland, fruit plantations and olive groves), open areas (arable and cultivated land, vineyard, pastures, natural grasslands), urban areas (artificial surfaces) and others (beach, bare rocks, burnt areas, salines, water bodies). As populations of the European wildcat, *Felis silvestris*, are considered as residual in Corsica [32], we only considered domestic cats to which we attributed patches of urban and open areas, both being their areas of residence or hunting [33]. We attributed patches of forests and mid-open areas to wild boar habitat [34,35]. Within each county, the *edge index* was calculated as a ratio of the sum of lengths of interface between wild boar areas and cat areas on the overall area of the county. We expected seroprevalence to increase with edge index, *i.e.* with increasing density of ecotone between wild boar and cat habitats. Analyses of the landscape composition were performed using ArcView 3.2a (ESRI Inc., Redlands, California, USA). Calculation of the edge index was performed using the Shapefile package of R software.

Meteorological conditions

Meteorological conditions may affect oocyst survival, especially through desiccation when conditions are dry and hot [16,36]. We obtained meteorological data on rain (mean precipitation in summer) and temperatures (mean temperature in summer) in 2006 and 2007 from MeteoFrance ®. However, these data were collected in 20 field stations scattered over the island, and not at the county level. We thus used the relationship between *altitude* and meteorological conditions: in Corsica, due to the strong altitudinal gradient, both rain and temperature are correlated with altitude. We first verified these relationships for summers 2006 and 2007. We then used altitude of the centroid of the county as an indicator of precipitation and temperature conditions. We expected seroprevalence to increase with *altitude*.

In order not to impose a linear relationship between the seropositive response (logit scale) and each independent continuous environmental covariates (*edge index*, *farm density* and *altitude*), we tested them as discrete factors, after transformation into three modalities of equal sample size. In each model, we included first-order interaction terms between altitude and the two others factors: because *altitude* describes meteorological conditions whereas *farm density* and *edge index* deal with the local landscape, we hypothesized that both aspect could interact.

RESULTS

Sampling plan

We collected 1399 muscle samples, 489 during year 1 and 910 during year 2 (Fig. 1). Samples came from 129 counties among 360 in Corsica, with 1 to 251 samples per county (24 counties with one sample and 74 with maximum 5 samples). Fifty-three counties were sampled during the two years.

Serological results

The agreement between the two MAT tests was good to excellent ($\kappa = 0.87$) (Table 1). The overall seroprevalence during year 1 was 0.55 [95% CI = 0.50–0.59] and was significantly higher than during year 2 (0.33, [0.29–0.35]) (Pearson Chi-square = 64.415, $P < 0.001$) (Table 2).

Epidemiological analysis and explanatory factors

Seroprevalence was lower in *juveniles* (respectively, 0.45 and 0.25 for years 1 and 2) than in *adults* (0.56 and 0.35), but the difference was statistically significant for year 2 only (Pearson Chi-square = 2.365 and 5.802, respectively, $P = 0.124$ and $P = 0.016$). For both years, there was a significant variability in the spatial distribution of seropositivity at the county scale (G-test statistic = 163.498 and 197.416, respectively, both $P < 0.001$).

Fig. 1. Spatial distribution of toxoplasmosis in wild boar collected in Corsica from 2006 to 2008: (a) year 1 (hunting season 2006-2007), (b) year 2 (2007-2008). Circles are positioned at the centroid of the corresponding sampled county. The diameter of the circles is proportional to sample size in the county (from 1 to 98 samples) and the colour to seroprevalence (0% : white ; 100% : black).

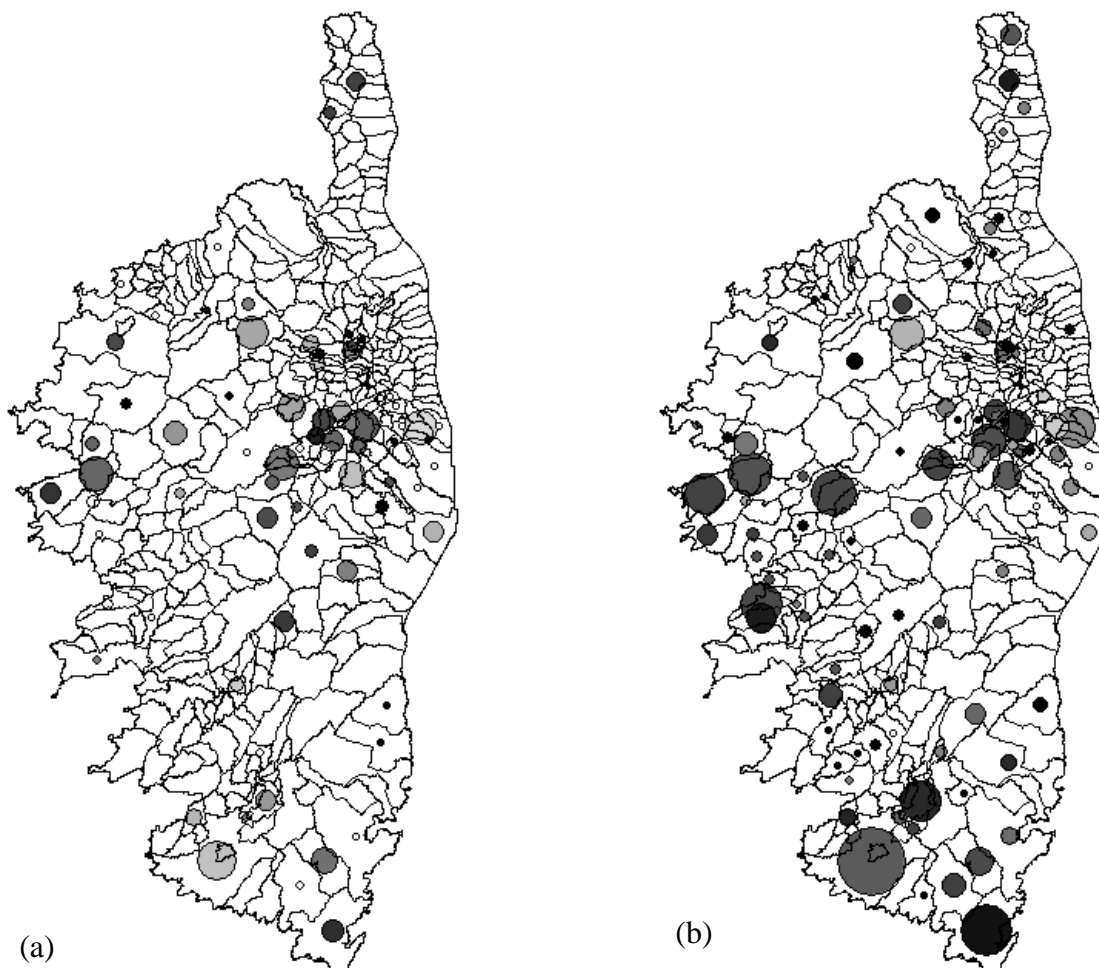


Table 1. Concordance between MAT using commercial antigen (Ag) Toxoscreen® (used for year 1) and MAT using antigen from the French Biological Resource Centre for Toxoplasmosis (BRC) (used for year 2).

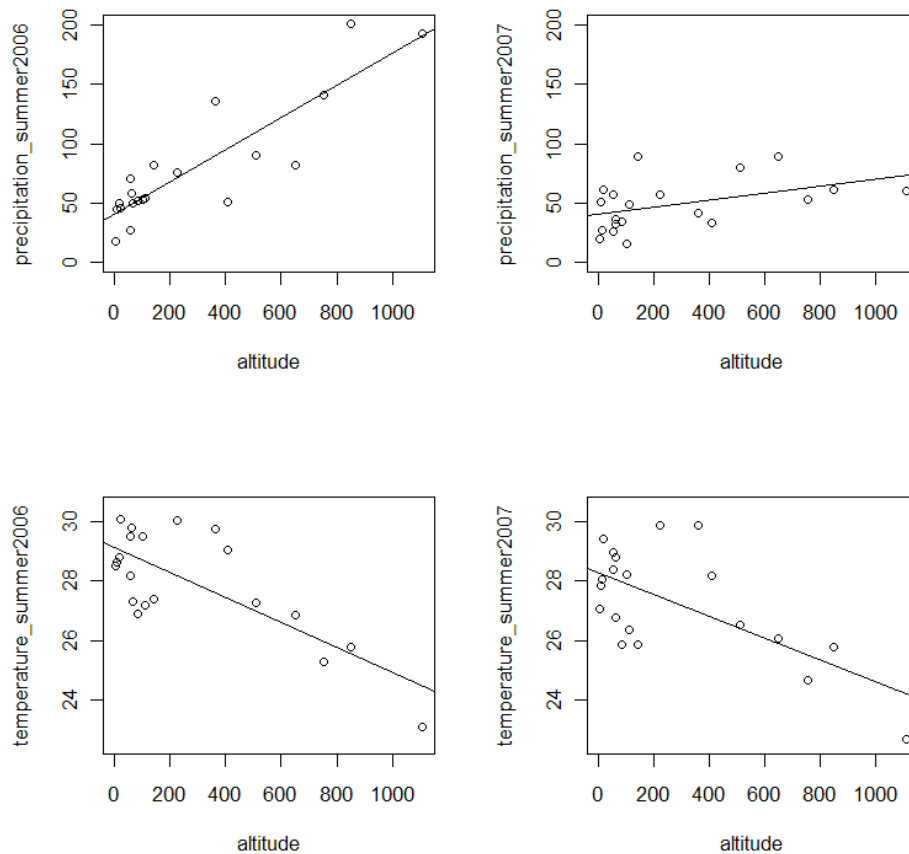
	Ag Toxoscreen® / Ag BRC				n	Kappa
	+/+	+/-	-/-	-/+		
Wild boar	57	3	55	5	120	0.87

As expected, meteorological conditions were related to altitude (Fig. 2). Altitude was correlated positively with mean rainfall in summer ($r = 0.881$ and 0.453 for year 1 and 2, respectively, $P < 0.001$ and $P = 0.045$) and negatively with mean temperatures over the period from June to August ($r = -0.756$ and -0.659 , both $P < 0.001$).

Table 2. Sample size and seroprevalence for *Toxoplasma gondii* in wild boars collected during year 1 (2006-2007) and year 2 (2007-2008) in Corsica (n= 1399). Results are presented per age class and gender, and overall seroprevalence is given with 95% confidence interval (CI).

Year	Seroprevalence (seropositives/total)					
	Age		Gender		Overall	CI
	Juveniles	Adults	Mâle	Female		
1	0.45 (29/64)	0.56 (240/425)	0.54 (136/252)	0.56 (133/237)	0.55 (269/489)	0.50 - 0.59
2	0.25 (42/171)	0.35 (255/739)	0.35 (165/470)	0.30 (132/440)	0.33 (297/910)	0.29 - 0.35

Fig. 2. Relationship between altitude and average temperature or precipitation for the summers 2006 and 2007 in 20 meteorological stations from Corsica (Meteo France® data).



The results of the four models were different (juveniles/year 1, juveniles/year 2, adults/year 1 and adults/year 2). For both models on juveniles, no factor was significantly related to seroprevalence. In adults of year 1, *edge index* had no effect, but seroprevalence was related to *farm density* (Table 3): the probability of being seropositive for an adult increased with the *farm density* in the county of hunting. The odds ratio for being seropositive was 2.7 [1.65-4.43] for the areas with the highest farm densities (≥ 0.45 farms/km²) compared to the areas with low farm densities (≤ 0.22 farms/km²). The Pearson goodness-of-fit test indicated that the final model fit was adequate ($P = 0.449$). The model including farm density as unique risk factor explained 9.4 % of the spatial heterogeneity at the county scale. In adults of year 2, we found also an effect of the *farm density* but in interaction with *altitude*, with a non-linear effect of farm density (Table 3). The probability of being seropositive was highest when both farm density and altitude were high (*farms density* ≥ 0.47 farms/ km² and *altitude* ≥ 573 m), and lowest at high altitudes but low farm density. The odds ratio for counties with high farm density and high altitude was estimated to 25 compared to counties with low farm density and high altitude. Moreover, we detected an effect of edge index, which was also estimated to be non-linear: wild boars were most often seropositive when *edge index* was low (odd-ratio = 2.45 for low *edge index*). The selected model fitted observed values (Pearson goodness-of-fit test, $P = 0.361$) and explained 19 % of the spatial heterogeneity at the county scale.

Table 3. Coefficients of the multivariable logistic regression models selected to explain *T. gondii* seropositivity in adult wild boar from Corsica: for each modality, parameter estimate with its standard error (SE), *P*-value of the Wald test and the adjusted odd ratio (OR) with 95% confidence interval (CI). Non-significant OR are in italics.

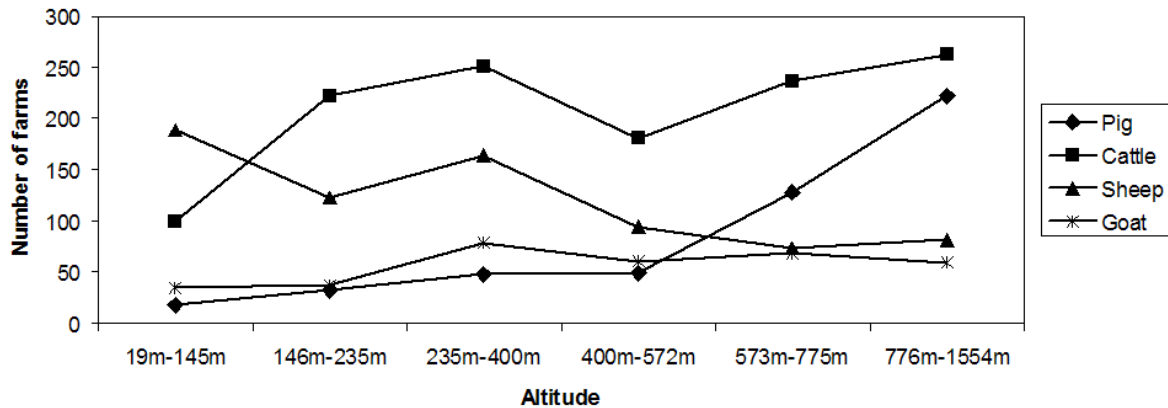
Year	Factor	Description	Parameter estimate (SE)	<i>P</i> (Wald test)	OR	CI	
Year 1	Intercept		0.788 (0.191)				
	Farm density	<0.22 farms/km ²			1.00		
		0.22 – 0.45 farms/km ²		0.500 (0.234)	0.032	1.65	1.0 – 2.61
		>0.45 farms/km ²		< 0.001	2.70	1.65 – 4.43	
Year 2	Intercept		-1.893 (0.522)				
	Farm density x altitude ⁽¹⁾	≤ 0.25 farms/km ²	235m- 573 m	0.572 (0.383)	0.135	1.77	0.84 – 3.76
			≥ 573 m			1.00	
		0.25-0.47 farms/km ²	≤ 235 m	1.129 (0.565)	0.045	3.1	1.02 – 9.36
			235m- 573 m	1.753 (0.519)	0.001	5.77	2.09 – 15.96
			≥ 573 m	1.250 (0.739)	0.091	3.49	0.82 – 14.85
		>0.47 farms/km ²	≤ 235 m	2.022 (0.589)	0.001	7.55	2.38 – 23.93
			235m- 573 m	1.082 (0.573)	0.059	2.95	0.96 – 9.07
			≥ 573 m	3.227 (0.643)	< 0.001	25.21	7.14 - 88.96
		Edge index	< 0.74 km/km ²	0.896 (0.479)	0.061	2.45	0.96 - 6.27
	0.74 – 1.42 km/km ²		-0.643 (0.383)	0.093	0.53	0.25 - 1.11	
	≥ 1.42 km/km ²				1.00		

⁽¹⁾ No county had low farm density and low altitude

DISCUSSION

To our knowledge the present study is the first survey relating *T. gondii* seroprevalence in a game species with environmental risk factors. We observed a high overall seroprevalence, ranging from 33% to 55%, depending on the year of sampling, and a high level of spatial heterogeneity that could be partially explained by environmental features, especially the density of farms, altitude and edge index.

Fig. 3. Relationship between altitude and number of farms with pigs (diamond-shaped), cattle (squares), sheep (triangles) and goat (stars) in Corsica (data from French ministry of Agriculture and Fishing). We defined the same three altitude classes (19-235m, 236-572m and 573-1554m) as used in the logistic regression analysis, then each class was separated in two parts with identical number of counties.



Seroprevalences are in agreement with data from previous studies using MAT to detect *T. gondii* infection in sera of wild boar (cut-off titre 1:25): in the U.S.A., 18 to 37% [6,7] of wild boars were found with antibodies to *T. gondii*, and 38.4% in Spain [8]. Several other studies also showed that toxoplasmosis is common in wild boar in Europe, even if results are less comparable since distinct methods or thresholds are used: 19% in Austria (indirect immunofluorescence test) [37], 15% in the Czech Republic (Dye Test, threshold 1:4) [38] or 26.2% (indirect fluorescence antibody test) [9] in the Czech Republic and 8.1% in the Slovak Republic (commercial ELISA) [10].

The MAT with a cut-off titre 1:25 has been validated to detect IgG antibodies to *T. gondii* in sera of domestic pigs [39]. To detect antibodies to *T. gondii* in muscle fluid in the present study, we chose the threshold 1:4 because previous study indicated that antibodies are at least 10 times diluted in muscle fluid of compared to serum [18,20,21]. The use of this threshold may have led to an over-estimation of the seroprevalence in the present study. Nevertheless the results of the analysis of explanative factors were stable using a lower threshold (data not shown).

Seroprevalence was significantly different between the two years of study. This interesting feature may be linked to climatic variations between the two consecutive years. Afonso *et al.* [40] showed that seroprevalence in cats varied among years, cats being most often seropositive when temperatures and precipitations before capture were high. High temperature and dryness decrease the survival of oocysts [16,41]. In Corsica, precipitations during summer 2007 were lower than during summer 2006 (975mm versus 1572mm of water cumulated for the 20 main meteorological stations of Corsica, MeteoFrance® data). The difference in prevalence may be related to drier climatic conditions the second year of sampling. Moreover, domestic cats roam further away from farms when temperatures are high [33]. The dissemination of *T. gondii* in the environment may be higher in these conditions. Variations of contamination of the environment and variations in survival conditions of parasite infective stages in external environment could explain the significant difference of seroprevalence we detected in wild boar among years of sampling especially in juveniles. More data on the temporal variability of toxoplasmosis are requested to further study the temporal variability of toxoplasmosis risk.

We investigated environmental risk factors at the county scale, whereas, for a given individual host, risk factors are acting at the level of its home range, which is generally smaller than a county, but can be variable and encompass parts of several counties [42]. However, this scale is appropriate to describe local landscape management, especially via

agricultural practices. Under the same assumption, Afonso [43] demonstrated that antibodies prevalence in European wildcats was related to the number of farms per county. In agreement with the hypothesis that farm density is an indicator of the presence of favourable areas for cats and toxoplasmosis, we showed that antibody prevalence in adult wild boar is related to farm density in the county of capture. Moreover, we found a synergic interaction between high altitude and high farm density. In Corsica, the number of pig outdoor breeding farms is highest at high altitudes (Fig. 3). Swine farms are reservoirs of *T. gondii* infection [30,31] and, at high altitudes, high precipitation levels are observed, which favours the survival of oocysts in the environment [16]. In Corsica, agricultural areas located at high altitudes meet all conditions for the intense propagation of the parasite, and wild boar hunted in these areas are particularly at-risk of transmitting infection to consumers.

Contrary to our prediction, the probability of an adult wild boar to be infected by *T. gondii* is highest at low edge index, *i.e.*, in counties with a low level of landscape fragmentation. The edge index was expected to quantify the presence of places where infective contacts may occur between wild boar and areas frequented by cats. However, patches smaller than 0.25 km² are not considered in the CLC data. We thus underestimated the level of fragmentation in counties with patches under this size. Moreover, urbanized areas can be smaller than 0.25 km², as it is the case for small villages where the agricultural landscape is favourable to high cat density [44]. In our dataset, a main part of the counties with a low edge index corresponds to counties with small villages where toxoplasmosis can be favoured. Counties with a low edge index also tend to be situated at a high altitude in Corsica ($r = -0.28$ between *edge index* and *altitude*), where swine farms are frequent and meteorological conditions favour oocyst survival (Fig. 3). Finally, the confusion between edge index, patch size and altitude may explain the counter-intuitive result found, and this confusion could not be disentangled at this scale. This result underlines the need for investigation at a fine scale to better understand how landscape composition could model the interface between wild boar and cat and influence the interspecific transmission of *T. gondii*.

The datasets concerning juveniles did not enable us to detect any risk factor. One explanation may be the lack of statistical power due to a too low number of animals tested. Moreover this population may be homogeneous as for the risk of infection, and differences due to the environmental heterogeneity may appear only in adults. This would be in accordance with the results found in adult population where 9% and 19% of the variability among counties is explained by the variables tested. An important part of variability thus remains to be explained, possibly by other factors that we could not investigate here, as the direct estimation of cat density and infestation, local meteorological variables at a county scale, or soil burden of oocysts.

The consumption of raw or undercooked meat is the main route of infection in humans in Europe, representing 30 to 63% of infections depending on the country considered [5]. Specifically, pork meat has been considered as one of the major sources [45]. Over the last two decades, however, infection in pigs decreased dramatically with changes in pig production and management [3], which raises the question of the role of other species, including game, as a source of human infection. Traditionally, wild boar meat is consumed after long cooking, which kills tissue cysts [46]. However, the consumption of raw or undercooked meat is increasing. In Corsica, raw and salted pork meat products are traditionally prepared, and may contain wild boar meat [13]. The curing of meat does not affect the parasite immediately and the survival time of tissue cysts varies with the concentration of the salt solution and the temperature of storage [47]. Finally, salting does not kill all tissue cysts in home-made pork sausages [3]. Although the origin of most human infections cannot be documented precisely, acute toxoplasmosis has been reported in hunters after consumption of undercooked meat from wild pigs [48]. Thus, while prevalence of *T.*

gondii in pork meat decreases, game meat should not be neglected as a significant and possibly increasing source of toxoplasmosis. However, the assessment of the risk related to wildlife is only possible through a better understanding of the complex life cycle of *T. gondii* in the natural environment. This step can be achieved by combining information on toxoplasmosis, land use by intermediate and definitive hosts as well as physical characteristics of the environment, at different spatial and temporal scales.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all the volunteer hunters, especially Oscar Maestrini, for collecting field samples, the two Veterinarian Departmental Laboratories of Corsica for their technical help, and the Biological Resource Center for Toxoplasmosis in Reims for Formalin-fixed whole RH tachyzoites used in MAT. We thank Rémi Bouche and François Casabianca from INRA LRDE in Corte for their material and scientific support. This work was financially supported by Programme Bioscope (ANR 05 SEST 048-02) from French National Research Agency and by the French Ministry of Agriculture and Fishing.

DECLARATION OF INTEREST

None.

REFERENCES

1. **Larkin M.** *Toxoplasma* virulence explained. *The Lancet Infectious Diseases* 2007; 7: 87-87.
2. **Kijlstra A, Jongert E.** Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *International journal for parasitology* 2008; 38: 1359-1370.
3. **Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM.** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International journal for parasitology* 2000; 30: 1217-1258.
4. **Hill DE, et al.** Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Veterinary Parasitology* 2006; 141: 9-17.
5. **Cook AJ, et al.** Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on congenital toxoplasmosis. *British medical journal* 2000; 321: 142-147.
6. **Diderrich V, et al.** Serologic survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in free-ranging wild hogs (*Sus scrofa*) from the Great Smoky Mountains National Park and from sites in South Carolina. *The Journal of eukaryotic microbiology* 1996; 43: 122S.
7. **Dubey JP, et al.** Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. *Journal of Parasitology* 1997; 83: 839-841.
8. **Gauss CB, et al.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Veterinary Parasitology* 2005; 131: 151-156.
9. **Bártová E, Sedlák K, Literák I.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology* 2006; 142: 150-153.
10. **Antolová D, Reiterová K, Dubinský P.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild boars (*Sus scrofa*) in the Slovak republic. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2007; 14: 71-73.
11. **Schley L, Roper TJ.** Diet of wild boar *Sus scrofa* in Western Europe, with particular reference to consumption of agricultural crops. *Mammal Review* 2003; 33: 43-56.
12. **Klein F, et al.** *La gestion du sanglier: des pistes et des outils pour réduire les populations.* Auffargis, France: ONCFS, Brochure série *Technique et Faune sauvage*, 2007, pp. 29.
13. **Casabianca F.** Viandes et Produits de charcuterie. In: Albin Michel, eds. *Corse, Produits du terroir et recettes traditionnelles.* Paris: Conseil National des Arts Culinaires, Inventaire du patrimoine culinaire de la France, 1996, pp. 335.
14. **Ruiz A, Frenkel JK.** Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1980; 29: 1161-1166.

15. **Warner RE.** Demography and movements of free-ranging domestic cats in rural areas Illinois. *Journal of Wildlife Management* 1985; 49: 340-346.
16. **Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M.** Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1975; 24: 439-443.
17. **Saint-Andrieux C, Barboiron A.** Tableaux de Chasse cerf- chevreuil- sanglier. Saison 2007-2008. *Faune Sauvage* 2009; 283: encart central.
18. **Nöckler K, et al.** Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. *Veterinary Parasitology* 2005; 132: 85-90.
19. **Dubey JP, Desmots G.** Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Veterinary Journal* 1987; 19: 337-339.
20. **Le Potier MF, et al.** Use of muscle exudates for the detection of anti-IgE antibodies to Aujeszky's disease virus. *Veterinary Record* 1998; 143: 385-387.
21. **Nielsen B, et al.** Use of muscle fluid as a source of antibodies for serologic detection of Salmonella infection in slaughter pig herds. *Journal of veterinary diagnostic investigation* 1998; 10: 158-163.
22. **Fleiss JL, Levin B, Paik MC.** *Statistical methods for rates and proportions*. 3rd edn. New York: John Wiley & Sons, 2003.
23. **FNC-ONCFS.** *Atlas - Tout le gibier de France*. Paris: Hachette pratique, 2008, pp. 508.
24. **McDonald JH.** In: *Handbook of Biological Statistics*. Baltimore, Maryland: Sparky House Publishing, 2008, pp. 58-63.
25. **Burnham KP, Anderson DR.** Data-based selection of an appropriate model: the key to modern data analysis. In: D.R. McCullough, Barrett, R.H., eds. *Wildlife 2001: Populations*. New York, USA: Elsevier Applied Science, 1992, pp. 16-30.
26. **Dohoo I, Martin W, Stryhn H.** *Veterinary Epidemiology Research*. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada: Atlantic Veterinary College Inc., 2003, pp. 706.
27. **Cameron AC, Windmeijer FAG.** An R-squared measure of goodness of fit for some common nonlinear regression models. *Journal of econometrics* 1997; 77(2): 329-342.
28. **R Development Core Team.** R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation Statistical Computing* 2008; <http://www.R-project.org>.
29. **Kijlstra A, et al.** *Toxoplasma gondii* Infection in Animal-Friendly Pig Production Systems. *Investigative Ophthalmology and Visual Science, September, Vol, No* 2004; 45(9): 3165-3169.
30. **Weigel RM, et al.** Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *Journal of Parasitology* 1995; 81(5): 736-741.
31. **Lehmann T, et al.** Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infection, Genetics and Evolution* 2003; 3: 135-141.
32. **Fabrizy B.** Etude des populations de chat sauvage ou chat forestier en Corse [Veterinary thesis]. Lyon: Université Claude Bernard, 2000.
33. **Germain E, Benhamou S, Poulle M-L.** Spatio-temporal sharing between the European wildcat, the domestic cat and their hybrids. *Journal of Zoology* 2008; 276: 195-203.
34. **Meriggi A, Sacchi O.** Habitat requirements of wild boars in the northern Apennines (N Italy): A multi-level approach. *Italian Journal of Zoology* 2001; 68: 47-55.
35. **Boitani L, et al.** Spatial and activity patterns of wild boars in Tuscany, Italy. *Journal of Mammalogy* 1994; 75: 600-612.
36. **Barbier D, Ancelle T, Martin-Bouyer G.** Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in La Guadeloupe, French West Indies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1983; 32: 935-942.
37. **Edelhofer R, Prosl H, Kutzer E.** Trichinellose und toxoplasmose in Wildschwein aus Ost-Österreich. *Wiener tierärztliche Monatsschrift* 1996; 83: 225-229.
38. **Hejlícek K, Literák I, Nezval J.** Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *Journal of Wildlife Disease* 1997; 33: 480-485.

39. **Dubey JP, et al.** Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma-Gondii* infection in naturally infected sows. *American Journal of Veterinary Research* 1995; 56: 1030-1036.
40. **Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E.** Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). *International journal for parasitology* 2006; 36: 1373-1382.
41. AFSSA. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation. Rapport du groupe de travail "*Toxoplasma gondii*" de l'afssa. Maisons-Alfort, France: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments; 2005 December.
42. **Keuling O, Stier N, Roth M.** Annual and seasonal space use of different age classes of female wild boar *Sus scrofa L.* *European Journal of Wildlife research* 2008; 54: 403-412.
43. **Afonso E,** Etude de la dynamique de la transmission de *Toxoplasma gondii* dans les milieux contrastes [Thesis]. Reims, France: Université de Champagne Ardennes, 2007, 272 pp.
44. **Pita R, et al.** Influence of landscape characteristics on carnivore diversity and abundance in Mediterranean farmland. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 2009; 132: 57-65.
45. **Dubey JP, Beattie CP.** *Toxoplasmosis of animals and man.* Boca Raton, Florida: CRC Press, 1988, pp. 220.
46. **Dubey JP.** The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures. In: E. Petersen P. Ambroise-Thomas, eds. *Congenital Toxoplasmosis Scientific Background, Clinical Management and Control.* Paris: Springer-Verlag, 2000, pp. 271-275.
47. **Dubey JP.** Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-208C. *Journal of Parasitology* 1997; 83: 946-949.
48. **Choi WY, et al.** Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *Journal of Infectious Diseases* 1997; 175: 1280-1282.

III.4. Discussion et conclusions

III.4.1. Souches de *T. gondii* circulantes dans la faune sauvage

Les 11 souches que nous avons isolées dans la faune sauvage corse appartiennent au génotype II.

L'échantillonnage de ce volet de l'étude ne couvre pas la totalité du territoire insulaire. Nous ne pouvons donc pas exclure la présence d'un génotype atypique en Corse. Toutefois les souches de type II ont été isolées dans différentes parties de l'île (Fig. 13, ci-dessous). Il semble donc que le génotype II soit celui qui prédomine dans l'environnement en Corse. Ce génotype est aussi celui qui prédomine largement dans les cas de toxoplasmose congénitale chez l'Homme en France (Ajzenberg *et al.*, 2002), ainsi que chez les moutons d'élevage (Dumètre *et al.*, 2006) et les rapaces de France continentale (Aubert *et al.*, 2008).

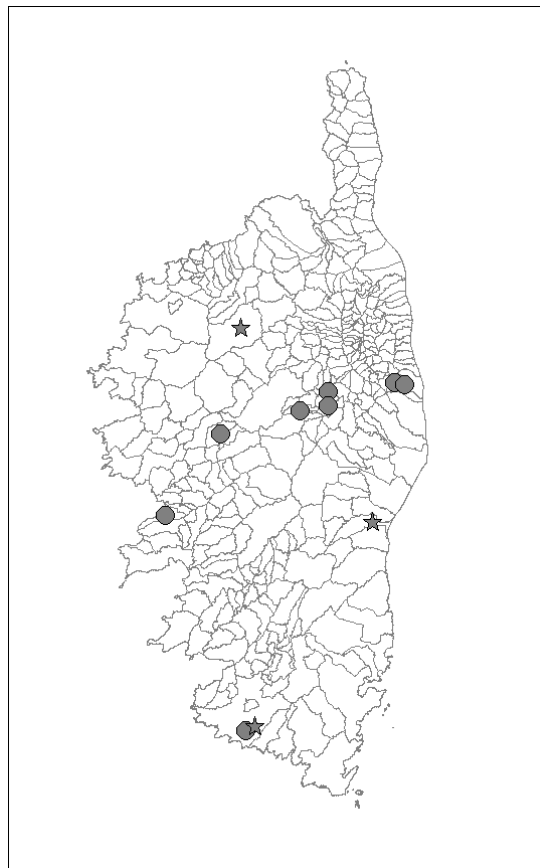


Figure 13 : Localisation des souches de *T. gondii* de type II isolées en Corse. Les étoiles localisent les souches isolées chez les renards et les ronds les souches isolées chez les sangliers.

Grâce à cette étude moléculaire, nous mettons en évidence que la Corse ne présente donc pas de singularité particulière en termes de souches circulantes par rapport au reste du territoire français métropolitain et que le risque de toxoplasmose atypique n'est pas majeur.

Il ressort par ailleurs que l'étude de la faune sauvage est intéressante pour indiquer le type de souche circulant dans l'environnement : en accord avec les autres résultats obtenus chez cette espèce en France continentale, le renard, en tant qu'espèce prédatrice, apparaît comme une espèce sentinelle de toxoplasmose en Corse (annexe 4).

III.4.2. Séroprévalence et méthode sérologique

- Seuil de positivité du test sérologique sur sérum

Dans les études de séroprévalence de la toxoplasmose chez le porc utilisant le test MAT (Modified agglutination Test) sur sérum, le seuil de positivité est généralement fixé à 1:25 (ou 1:20) (Dubey *et al.*, 1995).

En utilisant ce seuil nous mettons en évidence une prévalence de 13,1 % chez les 44 sangliers pour lesquels nous avons pu prélever du sérum en Corse (prévalence standardisée sur l'âge, intervalle de confiance à 95% : $\pm 13,8$ %) (cf. P2-III.2, p.111). Toutefois, parmi les animaux échantillonnés dans l'ensemble de l'étude, certains individus avec des titrages d'anticorps inférieurs au 1:25 étaient porteurs de kystes musculaires dans le cœur. Ce résultat soulève la question du choix du seuil de positivité pour interpréter les résultats sérologiques de toxoplasmose obtenus en utilisant un test développé pour les animaux domestiques, le MAT.

Ainsi, d'après nos résultats, le seuil de 1:6 paraît biologiquement pertinent pour déterminer une séroprévalence chez les sangliers à partir du sérum dans la mesure où certains individus de notre étude présentant un tel titrage d'anticorps étaient porteurs de toxoplasmes. Dans ce cas, la séroprévalence apparente de notre petit échantillon de sangliers (n=44) serait de 34,5 % en 2007-2008 (prévalence standardisée sur l'âge, intervalle de confiance à 95% : $\pm 15,5$ %) (résultats complémentaires). Certains individus séropositifs au 1/6^{ème} étaient toutefois négatifs par la technique d'isolement parasitaire, aussi le risque de faux-positif existe et des travaux complémentaires seraient nécessaires pour valider ce seuil.

- Matrice de test : sérum ou fluide musculaire

Cette dernière valeur de séroprévalence serait d'ailleurs en accord avec la séroprévalence de 33% (n=1396, IC 95% : 29% - 35%) obtenue cette même saison par MAT sur une autre matrice de test, le fluide musculaire extrait de pilier du diaphragme (P2-III.3).

Dans notre étude il semblerait que la concordance entre le test MAT sur sérum et celui sur fluide musculaire soit d'ailleurs meilleure lorsque le seuil de positivité du MAT sur sérum est fixé à 1:6 (Table 2.2). Toutefois, compte tenu du très petit nombre d'échantillons sur lesquels le test de concordance est effectué (34 animaux pour lesquels nous avons pu collecter sérum et fluide), nous ne pouvons pas porter de conclusions significatives. Ce manque de puissance pourrait d'ailleurs expliquer le fait que la meilleure concordance entre les résultats obtenus sur les deux types de matrices reste moyenne (0,41) (Table 2.2).

Table 9. Concordance entre le test MAT sur sérum (seuil de positivité 1:6 ou 1:25), utilisé au chapitre III.2, et le MAT sur fluide musculaire (seuil de positivité 1:4), utilisé au chapitre III.3, pour 34 animaux. Résultats complémentaires.

	MAT sur sérum / MAT sur fluide				n	Kappa
	+/+	+/-	-/-	-/+		
Seuil de positivité du sérum : 1:6	12	5	12	5	34	0,41
Seuil de positivité du sérum : 1:25	5	0	17	12	34	0,29

L'utilisation du fluide musculaire a été validée pour le dépistage de la brucellose et de la maladie d'Aujeszky chez les sangliers (Garin-Bastuji *et al.*, 2004 ; Toma *et al.*, 2004).

La collecte de sérum sur un sanglier mort est bien souvent une opération délicate : le sang dans le cœur peut être coagulé et celui dans la cage thoracique n'est pas toujours aisé à prélever, d'autant plus si l'animal a été visé au niveau du thorax (hémorragie). Dans de nombreux cas par ailleurs le prélèvement de sang est de qualité insuffisante pour pouvoir obtenir le sérum et être analysé. Le prélèvement de muscle, dont est extrait ensuite le fluide, est en revanche beaucoup plus facile à mettre en place à grande échelle chez le sanglier. De plus, dans le cas de notre dispositif, l'analyse sur fluide musculaire permettait de valoriser doublement les prélèvements et étudier la séroprévalence sur l'ensemble du territoire de Corse (cf. P2-III.3, p.111). Dans un contexte de surveillance sérologique multiple et à large échelle chez le sanglier, la possibilité de réaliser des analyses sur fluide musculaire s'avère donc une alternative très intéressante.

- Antigènes utilisés

Les antigènes que nous avons utilisés pour analyser les prélèvements de la première et la seconde campagne d'échantillonnage ne sont pas les mêmes : pour des raisons techniques en effet, dans le premier cas, l'antigène est celui d'un kit commercial, le Toxoscreen® (Biomérieux), et dans le second cas, l'antigène est celui extrait de souches de *T. gondii* isolées par le CNR Toxoplasmose à Reims (cf. P2-III.3., p.119). La concordance entre les tests MAT utilisant les deux types d'antigènes s'est avérée très bonne (kappa = 0,87), mais toutefois pas

parfaite. Aussi, craignant d'introduire un biais dans l'analyse, nous avons préféré ne pas assimiler les résultats des deux saisons de prélèvements dans un même jeu de données. Lors d'une prochaine étude, nous conseillerons bien évidemment l'utilisation d'un seul et même antigène.

III.4.3. Etude analytique et variables explicatives

- Variation inter-annuelle de la séroprévalence

La séroprévalence apparente des sangliers prélevés en 2006-2007 (55 %, IC 95% = [50% – 59%]) était significativement supérieure à celle des sangliers prélevés en 2007-2008 (33 %, IC 95% = [29% – 35%]). Lorsqu'il fait humide les oocystes de *T. gondii* survivent mieux dans l'environnement (Frenkel *et al.*, 1975). Or, les précipitations de l'été 2006 en Corse ont été supérieures à celles de l'été 2007 (78 mm versus 49 mm, moyenne pour 20 stations corses, données MétéoFrance®). De plus, chez le chat, qui excrète les oocystes, la prévalence est plus élevée après une année pluvieuse et chaude (Afonso, 2007). Dans ces conditions la dissémination d'oocystes dans l'environnement est donc plus importante. Ces deux facteurs, survie et dissémination des formes infestantes, influent donc sur le niveau de contamination de l'environnement et pourraient expliquer la différence inter-annuelle de séroprévalence observée ici.

- Analyse paysagère : choix des variables explicatives et échelle d'étude

La composition du paysage local conditionne à la fois la structuration des populations de chats et la survie des oocystes (présence ou non de zones humides et ombragées) (Afonso, 2007). L'analyse paysagère est donc une des clés majeures à la compréhension de la circulation des toxoplasmes entre les hôtes et leur exposition au parasite. En Corse, nous avons recherché les facteurs environnementaux permettant d'expliquer la présence d'anticorps anti-*T. gondii* chez le sanglier à l'échelle de la commune. Ce niveau d'analyse semble approprié pour décrire l'aménagement du paysage, notamment par les pratiques agricoles. En revanche l'étude de la circulation des toxoplasmes dans l'environnement, notamment liée à la présence des chats et la survie des oocystes, mais aussi de l'hôte sanglier à cette échelle peut être discutée comme ci-dessous.

Présence et survie des oocystes

La contamination environnementale par les chats et la survie des oocystes dépendent des conditions climatiques (voir ci-dessus), c'est-à-dire notamment des précipitations et des

températures. Chez l'Homme, ces facteurs climatiques sont souvent mis en avant pour expliquer les variations de prévalence observées dans les populations humaines d'une région à l'autre (Tenter *et al.*, 2000). Aussi, lors d'analyses préliminaires, nous avons utilisé directement les données de précipitations et de températures recueillies par les stations météorologiques (données Météo France disponibles pour 20 stations corses), en affectant à chaque sanglier les données de la station la plus proche de la commune de capture. Mais la distance entre la station et la commune de capture pouvait atteindre 30 km. De plus, l'affectation des données ne pouvait pas prendre en compte les barrières montagneuses, pourtant importantes sur l'île : un sanglier capturé dans une vallée pouvait ainsi se voir affecter les données de températures et de précipitations d'une station d'une autre vallée, aux conditions climatiques parfois sensiblement différentes. Les données de précipitations et de températures ainsi affectées se sont donc avérées trop approximatives et les résultats des analyses étaient ininterprétables.

Du fait que l'altitude des stations météorologiques était un bon indicateur des variations de température et de précipitations observées dans ces stations (cf. P2-III.3, p.119, Fig. 1), nous avons émis l'hypothèse qu'à l'échelle communale cette corrélation était toujours vraie et avons plutôt considéré l'altitude moyenne de la commune comme variable potentiellement explicative. Cependant, il est probable que les conditions climatiques influencent la survie des oocystes à une échelle plus fine que celle de la commune. Pour un travail plus précis, et dans le cas d'une étude moins vaste, le recueil répété de données de température et d'humidité sur les lieux mêmes de battue serait à conseiller.

Echelle d'étude du sanglier

Pour la totalité des sangliers échantillonnés, la commune de capture a été renseignée par les chasseurs dans 99,8 % des cas. Sur la feuille d'accompagnement des prélèvements, nous interrogeons aussi les chasseurs sur le lieu-dit de la battue, dans le but d'affiner la géo-localisation des sangliers. Cette donnée s'est avérée non-exploitable directement dans la base de données géographiques : le nom du lieu-dit indiqué par les chasseurs était le plus souvent vernaculaire, c'est-à-dire non indiqué sur la carte IGN, ou bien, dans quelques cas le nom du lieu-dit de battue n'était pas renseigné (4% des cas). Pour accéder à la géo-localisation plus précise que la commune de capture, nous avons donc engagé un travail de cartographie des lieux-dits de chasse en prenant contact avec chaque équipe de battue. Trop chronophage, ce travail n'a pas pu aboutir. L'échelle la plus fine de localisation des individus prélevés dont nous disposions était donc la commune. En fonction de la commune considérée, cette échelle

était plus ou moins adaptée à l'étude du sanglier, dont le domaine vital varie de 5 à 20 km² (cf. P1-II.2.1., p.33), la surface des communes échantillonnées variant quant à elle de 2,7 km² (Alzi) à 203 km² (Sartène).

Présence du chat et circulation du parasite

Concernant les densités de chats, nous avons utilisé un indice indirect, la densité de fermes par commune. Du fait notamment de la présence importante de rongeurs, les fermes constituent en effet des lieux de vie privilégiés pour les groupes de chats (Kijlstra *et al.*, 2004). Le village, par ailleurs favorable aux fortes densités de chats (Pita *et al.*, 2009), aurait pu aussi être une variable intéressante à considérer. Mais, compte tenu de la précision minimale (0,25 km²) de l'acquisition des données d'occupation du sol par le Corine Land Cover (données IFEN), les petits villages corses, situés très souvent en zone de montagne, ne pouvaient pas être matérialisés. La présence de ces villages n'a donc pas pu être prise en compte dans le calcul de l'indice d'interface, ou d'écotone, entre l'habitat des sangliers et les zones contaminées par les chats (cf. *Edge index* dans *Materials and methods*, P2-III.3). Les résultats contre-intuitifs obtenus concernant cet indice d'interface (diminution du risque de toxoplasmose chez le sanglier lorsque l'indice d'interface diminue) suggèrent que la circulation du parasite entre les hôtes devrait probablement être étudiée à une échelle plus fine que celle utilisée ici. Pour ce faire, l'acquisition de données de composition de paysage très précises doit être envisagée, soit par une démarche de terrain soit par l'utilisation de données satellitaires de haute résolution.

- Variables associées

L'analyse des variables associées à la présence d'anticorps anti-*T. gondii* chez le sanglier montre que la probabilité pour un sanglier adulte d'être exposé à la toxoplasmose augmente avec la densité de fermes dans la commune de capture. Chez les rongeurs, il a été montré que plus la distance aux bâtiments d'élevage est faible, plus la prévalence de toxoplasmose est élevée (Lehmann *et al.*, 2003). D'ailleurs, en milieu rural, les chats domestiques qui vivent dans les fermes montrent aussi des séroprévalences plus fortes (Afonso, 2007). Ces éléments révèlent l'intérêt de prendre en compte la présence de fermes dans l'étude de la circulation du parasite dans l'environnement. Dans l'étude de la toxoplasmose dans la faune sauvage, cette variable pourrait d'ailleurs constituer un indicateur alternatif à l'acquisition de données directes sur les densités de chats, nécessitant généralement la mise en place d'études de terrain lourdes (capture-marquage-recapture, transects de collecte d'indice de présence).

De manière plus précise encore, nous montrons qu'en Corse les sangliers capturés dans des communes d'altitude (> 570m) à forte densité de fermes sont les plus exposés à la toxoplasmose. Or les communes d'altitude sont aussi celles où les exploitations porcines sont plus nombreuses (cf. P2-III.3., p.119, Fig. 3). Les exploitations de porcs où se trouvent des chats constituant des réservoirs de toxoplasmes (présence conjointe d'hôtes intermédiaires, les rongeurs, et définitifs, les chats) (Weigel *et al.*, 1995; Lehmann *et al.*, 2003) et les conditions climatiques en altitude pouvant être plus favorables, il semble donc qu'en Corse les zones d'élevage de porc d'altitude constituent des zones de plus forte circulation de la toxoplasmose.

Dans le but d'affiner l'analyse et d'identifier plus précisément encore les facteurs associés à la présence d'anticorps chez les sangliers une année donnée, nous avons analysé séparément les données concernant les individus jeunes, infestés l'année de la capture (cf. *Design of the statistical analysis*, P2-III.3). Cette analyse n'a pas permis de mettre en évidence de facteurs explicatifs chez les jeunes, c'est-à-dire liés spécifiquement à l'année de capture. Le manque de puissance dû au trop faible nombre d'échantillons analysés (64 juvéniles en 2006-2007, 171 en 2007-2008), est une des explications possibles de ce résultat. Nous ne pouvons pas exclure par ailleurs que ce résultat reflète une absence de structure immunitaire de la population analysée c'est-à-dire que la production d'anticorps dans cette population de jeunes individus ne soient pas homogènes à exposition comparable.

Enfin, même chez les individus adultes, les variables identifiées comme facteurs de risque n'expliquent que 9 à 19% de la variabilité du risque à l'échelle étudiée. Aussi, la majeure partie des facteurs de risque de toxoplasmose chez le sanglier demeure encore inconnue, et des travaux complémentaires sont nécessaires pour davantage comprendre la circulation du parasite.

III.4.4. Viande de sanglier et risque zoonotique de toxoplasmose en Corse

Outre les données périnatales, nous ne disposons pas de données concernant l'incidence de la toxoplasmose chez l'Homme (cf. P2-III.1., p.109), ou bien concernant les pratiques actuelles de consommation des viandes de sanglier en Corse. Ces données seraient nécessaires pour permettre l'évaluation chiffrée de ce risque zoonotique. Elles pourraient être acquises via une enquête auprès des chasseurs et consommateurs (cf. P3-I.3., p.171).

Toutefois, les très fortes séroprévalences mises en évidence par notre étude, associées à l'isolement de toxoplasmes chez les sangliers, indiquent la présence d'un risque important

lié à la consommation de viande de sanglier insuffisamment cuite en Corse. Ce risque n'est pas homogène à l'échelle du territoire insulaire : nous montrons en effet que la consommation de sangliers chassés dans des communes de montagne (> 570 m), où l'élevage de porc est fortement présent et au paysage peu fragmenté est davantage à risque pour l'Homme.

Par ailleurs, si la cuisson et la congélation permettent de d'inactiver les toxoplasmes, en revanche le salage seul ne semble pas être suffisant pour prévenir le risque de transmission de toxoplasmose à l'Homme. Aussi, en Corse le risque lié à la consommation de produits de charcuterie locale traditionnelle doit être rappelé.

IV. La tuberculose à *Mycobacterium bovis*

IV.1. Contexte et objectifs

- La tuberculose en Corse

La Corse est une des régions de France où demeurent des foyers réguliers de tuberculose à *M. bovis* chez les bovins. Ces foyers sont le plus souvent découverts à l'abattoir lors de l'inspection des carcasses ; le bacille étant ensuite isolé puis identifié après mise en culture des lésions. Comme décrits au chapitre P1-III.4, une fraction des animaux en Corse sont abattus hors abattoir. De plus, du fait du mode de conduite des bovins, en libre parcours généralement sans système de contention adéquate, la prise en main des animaux est bien souvent une opération délicate, voire impossible. Dans ces conditions, l'application en élevage de la prophylaxie de cette maladie par les vétérinaires sanitaires (tuberculination et lecture du test à 48h) et la maîtrise de cette maladie chez les bovins sont compromises. Chez le porc, on note la découverte récente d'animaux présentant des lésions à l'abattoir. La mise en évidence de tels cas étant favorisée du fait du développement de l'inspection systématique des carcasses lié à l'évolution de la réglementation.

Concernant la faune sauvage, dès la mise en place du dispositif en 2006 nous avons été interpellés par des acteurs des FDC, des lieutenants de louveterie ou certaines équipes de chasse, sur les conséquences possible de cette maladie sur les populations de sangliers. Par ailleurs, nous avons connaissance de la découverte de sangliers porteurs de *M. bovis* en 2003-2004 à l'occasion d'une enquête sérologique nationale à l'initiative de l'ONCFS, et conduite en Corse par la DDSV2B et la FDC2B (détection du bacille dans les ganglions rétropharyngiens).

Toutefois, force était de constater que les données concernant la tuberculose en Corse étaient fragmentaires et que ni les autorités sanitaires de santé animale ni les organismes de chasse n'avaient de connaissance régionale de la situation concernant cette maladie zoonotique. Par ailleurs la mise en rapport de foyers domestiques avec des cas sauvages était soit occultée soit très fortement discutée. Chez les chasseurs eux-mêmes, les connaissances sur la maladie étaient inégales : méconnaissance de la présence de la maladie sur l'île pour certains chasseurs, inquiétude d'autres quant aux conséquences cynégétiques (présence de la

maladie et interdiction de chasser, impact sur la dynamique des populations de gibier) ou zoonotiques (plus rarement).

Finalement, au cours de la campagne de chasse 2007-2008, nous avons décrit trois nouveaux sangliers suspects de tuberculose lors de notre présence sur les battues dans le cadre du dispositif de surveillance active (voir chapitre suivant), ce qui nous a incités à explorer davantage la question de cette maladie en Corse.

- Objectifs de notre travail

Dans ce contexte, très sensible bien que mal connu, de la tuberculose bovine à la fois chez les animaux domestiques et sauvages, nous nous sommes en effet proposé de réaliser dans un premier temps un travail de synthèse des connaissances autour de cette zoonose en Corse, en répertoriant, datant et cartographiant les cas domestiques et sauvages de tuberculose à l'échelle régionale.

Dans un second temps, grâce notamment à l'utilisation de l'outil moléculaire (typage des souches), nous avons cherché à comprendre si les foyers de tuberculose chez les bovins, les porcs et les sangliers pouvaient être liés. Cette réflexion sur la place des différents hôtes, y compris sauvages, dans la circulation du bacille en Corse avait pour but de donner un nouvel éclairage sur la question de la tuberculose sur l'île, afin à terme d'améliorer la prévention et la gestion de cette zoonose.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'UZB de l'AFSSA, laboratoire de référence de la tuberculose où sont conservées toutes les souches de *M. bovis* isolées en France. Les analyses d'épidémiologie moléculaire ont notamment été effectuées par ce laboratoire. Par ailleurs, la réflexion autour de ce travail a été menée en lien avec l'USF de l'ONCFS, étant donné ses prérogatives et son expérience sur des dossiers semblables.

Les résultats de cette synthèse analytique font l'objet d'un article court, actuellement en révision, présenté au chapitre IV.2 :

Richomme C., Boschioli M.L., Hars J., Casabianca F. and C. Ducrot. **Bovine tuberculosis in livestock and wild boar in a Mediterranean island, Corsica.** *Journal of Wildlife Diseases*, sous presse.

Du fait du nombre de mots limités par l'exercice de la communication courte, la discussion de cet article a été réduite. Nous reviendrons donc plus longuement sur la discussion des méthodes et résultats principaux de cette étude dans le chapitre P2-IV.3.

IV.2. Bovine tuberculosis in livestock and wild boar in a Mediterranean island, Corsica

Céline Richomme^{1,2}, Maria Laura Boschioli^{3*}, Jean Hars⁴, François Casabianca² and
Christian Ducrot¹

¹ *Institut National de Recherche Agronomique (INRA), UR346 Épidémiologie Animale, F-63122 Saint Genès Champanelle, France.*

² *INRA, UR045 Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Élevage, F-20250 Corti, France*

³ *Unité Zoonoses Bactériennes, Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), 23 avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France*

⁴ *Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), Unité Sanitaire de la Faune, F-38610 Gières, France*

* Corresponding author: Maria Laura Boschioli

AFSSA, Unité Zoonoses Bactériennes, 23 avenue du Général-de-Gaulle, F-94706 Maisons-Alfort Cedex, France.

Journal of Wildlife Diseases, in press.

ABSTRACT: The zoonotic agent of bovine tuberculosis (bTB), *Mycobacterium bovis*, can be transmitted between domestic and wild animals, threatening wildlife populations and cattle control campaigns. In Corsica, a French Mediterranean island where domestic and wild species have very close interactions, bTB cases have been reported in cattle, pigs, and wild boar. Moreover, genotypes of *M. bovis* found in wild and domestic animals from the same area were identical. These data strongly suggest that wild and domestic animals are associated in an epidemiological bTB-transmission cycle. More investigations are needed, not only to understand the role played by each species in order to implement appropriate control measures, but also to assess the risk of transmission to humans.

Key words: Bovine tuberculosis, Corsica, epidemiology, wild boar, zoonosis.

Bovine tuberculosis (bTB) is a major disease with serious socio-economic and public health implications that is found throughout the world. Like almost all mammal species, human beings are susceptible to *M. bovis*, the principal agent of bTB. In France, after health measures were introduced in the 1950s - mainly milk pasteurization - the incidence of *M. bovis* tuberculosis in humans decreased dramatically (Boulaïbal et al., 1998), but this pathogen is still a cause of human tuberculosis (Mignard et al., 2006). Concerning cattle herds, France was declared bTB-free by the European Commission in 2001 although the disease still persists in some French regions (Anonymous, 2009). Moreover, like in the United Kingdom, Spain, Italy, the United States and New Zealand (Palmer, 2007), the existence of bTB in wildlife was recently demonstrated in Normandy (northern France), where red deer, *Cervus elaphus*, and wild boar, *Sus scrofa*, may be responsible for spillback transmission to cattle (Zanella et al., 2008a). In this paper we report the bTB cases discovered in livestock and wildlife in Corsica, a French Mediterranean island (8,680 km², 42°00 N; 09°00 E) and discuss both the epidemiological and public health concerns raised by these findings.

In Corsica, cattle - the natural domestic host and main source of *M. bovis* - as well as other *M. bovis* susceptible species such as pigs, goats and sheep (O'Reilly and Daborn, 1995) live in a pastoral, unfenced, mainly mountainous agro-ecosystem, composed of *maquis* (xerophile vegetation) and non-deciduous forests. In 2005 the agricultural data reported a total of 74,000 cattle, 37,000 pigs, 48,000 goats and 149,000 sheep (Source: Agreste) mainly free-range reared. Moreover, two main susceptible wild species are found in Corsica: wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus corsicanus*). As observed in mainland France, wild boar populations have increased in the last decade (Klein et al., 2007). Around 20,000 wild boars are hunted each year in Corsica, suggesting a high population density. Wild boar's habitat is mainly *maquis* and forest. Wild red deer became extinct from the island in the 1960s. Since 1985, animals from Sardinia - supposed to be phylogenetically closely related to Corsican red deer - have been bred in fenced areas and reintroduced stepwise in mountainous forested areas, first in two areas in the south-centre and then in two areas in the north-centre of the island (Fig. 1). The current overall population of wild red deer is about 200 individuals (Kidjo et al., 2006).

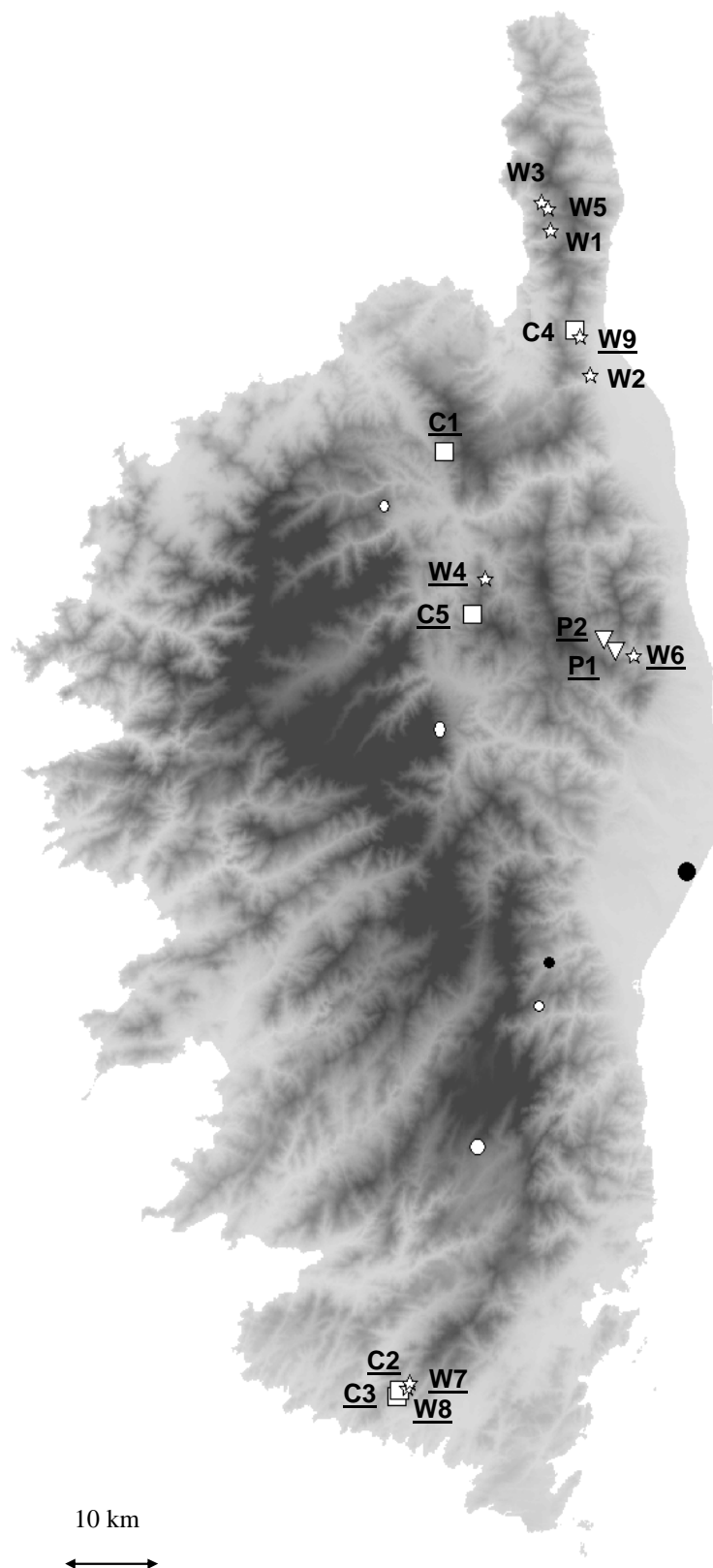


FIGURE 1. Location of outbreaks of bovine tuberculosis in cattle (white squares) and pigs (white triangles), and cases in wild boar (white stars). Geocode numbers refer to Tables 1 and 2. Underlined geocodes: spoligotype SB0840 - VNTR pattern 7-5-5-8-2 (Corsican strain). Others: spoligotype SB0120 - VNTR pattern 4-5-5-11-4 (BCG-like strain). Location of red deer populations: white ellipses, reintroduced populations; black circles, fenced reared populations. Cartography: MNT - IGN source.

In the last two decades domestic outbreaks of bTB have been reported not only in cattle but also more recently in pigs (Table 1, Fig. 1). *M. bovis* was isolated from all of these outbreaks. *M. bovis* was first isolated from a wild boar in 1989 in the south-east of the island (unpublished results). Then, in the 2000s, nine other cases from which *M. bovis* was isolated were reported (Table 2) in the same areas where bTB outbreaks also occurred in livestock (Fig. 1). No cases have been reported so far in goats, sheep or red deer.

TABLE 1. Strains of *M. bovis* isolated from livestock in Corsica, France. MIRU-VNTR allele profiles correspond in order to *loci* ETRA, ETRB, ETRC, QUB11a and QUB11b.

Site	Year	Species	Spoligotype	MIRU-VNTR profile	Geocode ^a
Pietralba	1997	Cattle	SB0840	7-5-5-8-2	C1
Sartène	2006	Cattle	SB0840	7-5-5-8-2	C2
Sartène	2007	Cattle	SB0840	7-5-5-8-2	C3
Furiani	2008	Cattle	SB0120	4-5-5-11-4	C4
Tralonca	2008	Cattle	SB0840	7-5-5-8-2	C5
Novale	2006	Pig	SB0840	7-5-5-8-2	P1
Pietricaggio	2007	Pig	SB0840	7-5-5-8-2	P2

^a Code refers to Figure 1

TABLE 2. Strains of *M. bovis* isolated from wild boar in Corsica, France.

Site	Year	Site of gross lesions	Spoligotype	MIRU-VNTR	Geo-code ^a
Olmeta du Cap ^b	2003	No data	SB0120	4-5-5-11-4	W1
Biguglia ^b	2003	No data	SB0120	4-5-5-11-4	W2
Olcani ^b	2003	No data	SB0120	4-5-5-11-4	W3
Aiti ^b	2003	No data	SB0840	7-5-5-8-2	W4
Olcani ^c	2006	Thoracic and mesenteric lymph nodes	SB0120	4-5-5-11-4	W5
Pietra-di-Verde ^d	2007	Lymph nodes in the head, liver	SB0840	7-5-5-8-2	W6
Sartène ^d	2007	Lymph nodes in the head, lung, liver	SB0840	7-5-5-8-2	W7
Sartène ^d	2007	Lymph nodes in the head, mesenteric lymph nodes	SB0840	7-5-5-8-2	W8
Furiani ^e	2008	Thoracic and mesenteric lymph nodes	SB0840	7-5-5-8-2	W9

^a Code refers to Figure 1

^b Sanitary survey conducted on the northern *département* by the French National Hunting Office, the local hunting federation and the Veterinary Services (bacterial analysis only conducted on lymph nodes in the head; 99 individuals sampled)

^c Dying animal discovered in very poor body condition, shot by hunters and taken to the Departmental Veterinarian Laboratory for a post-mortem examination.

^d Trichinellosis surveillance program conducted between 2006 and 2008 on the entire island by the French National Institute for Agricultural Research, the French Food Safety Agency and the Veterinary Services

^e Animal found dead in April 2008 in a private garden near the main city of the northern *département*, brought to the Departmental Veterinary Laboratory for a post-mortem examination

Genotypes were determined for all *M. bovis* strains. Spoligotyping, the most widely used genotyping method for *M. bovis*, based on the characterization of the direct repeat (DR) region of the *M. tuberculosis* complex (Kamerbeek et al., 1997), enabled the distinction to be made between two spoligotypes circulating in both domestic and wild animals (Tables 1 and 2): SB0120 (Mbovis.org database nomenclature), or the BCG-like strain, prevalent in mainland France, and SB0840, specifically found in Corsica (Haddad et al., 2001). MIRU-VNTR typing (Skuce et al., 2005), a more discriminative genotyping method, which allows the discrimination of strains of widely represented spoligotypes such as SB0120, was also used (Zanella et al., 2008a). The *loci* ETRA, ETRB, ETRC, QUB11a and 11b, which in our view provide the best discrimination results for *M. bovis* (Zanella et al., 2008a), were characterized. SB0120 strains had a unique MIRU-VNTR profile, as did the SB0840 strains, confirming the existence of two circulating strains on the island; strains isolated from wildlife cases are identical to those isolated from domestic outbreaks in the same area (Fig. 1).

Our study disclosed the similarity of strains among different host species in the same sampling sites. These results support the hypothesis that in Corsica bTB is transmitted between domestic and wild animals. Such a situation has been described in other Mediterranean ecosystems: Spain (Aranaz et al., 2004), mainland Italy (Serraino et al., 1999) and Sardinia, an Italian Mediterranean island near Corsica (Zanetti et al., 2008).

In Corsica, a large part of cattle rearing is free-range, which hinders the application of screening tests such as the skin test. Moreover, in some parts of the island, there are also cattle that do not belong to identified herds and behave like wild animals (hereafter called "feral cattle"). These animals are submitted to neither the screening tests nor the sanitary control or inspection applied to the rest of the cattle on the island in agreement with the national bTB eradication program (Reviriego Gordejo and Vermeersch, 2006). Finally, as quartering sites - only recently introduced on the island - are still not used systematically, cattle carcasses are often left behind in the environment. Infected carcasses, in which *M. bovis* can survive for long periods (Biet et al., 2005), may be responsible for inter-species transmission, especially to scavengers. Lesions observed in infected wild boar (Table 2) - not only thoracic but also mesenteric - indeed suggest that they acquire the infection through ingestion (Pollock and Neill, 2002). Under such circumstances, we assume that cattle, especially feral, play a major role in maintaining bTB and represent a source of contamination to wildlife. Nevertheless, our current data do not allow us to determine the exact transmission pathways between wild and domestic hosts.

Depending on the ecological and epidemiological situation, wild boar may be spillover hosts only, as defined by Haydon et al. (2002): the infection only occurs sporadically or persists within the population in the presence of another source of infection in the ecosystem, as was observed in Italy (Serraino et al., 1999), New Zealand (Coleman and Cooke, 2001) and possibly in the Brotonne forest, France (Zanella et al., 2008b). In other situations, the infection may be self-sustaining within the wild boar population in the absence of cattle or other ungulates, as was recently demonstrated in Spain (Naranjo et al., 2008, Vicente et al., 2006), where wild boar is considered as a true reservoir of *M. bovis* due to large or highly concentrated populations as a result of artificial feeding (Haydon et al., 2002). Our findings are not yet sufficient to elucidate the role of wild boar in Corsica. However, since population densities are high and hunting practices quite inappropriate, we believe that the wild boar could be or may become a maintenance host (Haydon et al., 2002) of *M. bovis* on the island. Leaving game offal in the environment after quartering is an especially high-risk practice that should be avoided to prevent bTB transmission. Moreover, although no cases in wild red deer have yet been reported, their increasing population and high susceptibility to *M. bovis* (Zanella et al., 2008a) may render this species a putative reservoir or spillover host to be

seriously taken into consideration. The composition of a multiple-host community, influencing the establishment and prevalence of diseases, is an important issue to bear in mind when analyzing the role of each susceptible cohabitating population (Holt et al., 2003). Creation and maintenance of wild reservoirs of tuberculosis and spillback transmission from wildlife to domestic herds would represent an additional threat to the bTB control program in Corsica and to human health. To better understand the epidemiology of *M. bovis* and define the feasibility of controlling this pathogen on the island, more data must be collected and current surveillance in both livestock and wildlife must be optimized. The current method for investigating tuberculosis in wildlife is to look for *M. bovis* in cephalic or respiratory lymph nodes or in infected organs after a post-mortem inspection. Significant efforts are needed to educate hunters in how to recognize and sample the appropriate lesions on game carcasses for further analysis in the lab. Moreover, the presence of *M. bovis* is not always well correlated with lesions in wild boar, and thus bovine tuberculosis can be underestimated (Zanella et al., 2008b). The validation of serological methods in wildlife may offer new means of investigation (Aurtenetxe et al., 2008).

Because of the zoonotic potential of *M. bovis*, transmission from animals to humans should also be considered, as production of infectious aerosols can occur when handling carcasses with lesions (Neill et al., 1989). Thus, in Corsica, farmers and hunters are considered to be exposed populations, to whom preventive practices relating to carcass handling and management should be promoted.

We are grateful to the Corsican Hunters' Federations and Veterinary Services for their collaboration, to the Savoie and Gard Departemental Veterinary Laboratories for bacterial analysis, to O. Maestrini for his helpful work in the field, and to Emmanuelle Gilot-Fromont and Victoria Boschioli for valuable comments on this manuscript.

LITERATURE CITED

- ANONYMOUS. 2009. Bilan du rapport annuel ruminants 2007. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, note de service DGAL/SDSPA/ N2009-8079, <http://agriculture.gouv.fr/sections/publications/bulletin-officiel/2008>. Accessed 25 February 2009.
- ARANAZ, A., L. DE JUAN, N. MONTERO, C. SANCHEZ, M. GALKA, C. DELSO, J. ALVAREZ, B. ROMERO, J. BEZOS, A. I. VELA, V. BRIONES, A. MATEOS, AND L. DOMINGUEZ. 2004. Bovine Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Wildlife in Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 2602–2608.
- AURTENETXE, O., M. BARRAL, J. VICENTE, J. DE LA FUENTE, C. GORTAZAR, AND R. JUSTE. 2008. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against *Mycobacterium bovis* in European wild boar. *BMC Veterinary Research* 4: 43.
- BIET, F., M. L. BOSCHIROLI, M. F. THOREL, AND L. A. GUILLOTEAU. 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC). *Veterinary research* 36: 411–436.
- BOULAHBAL, F., J. ROBERT, D. TRYSTRAM, A. C. DE BENOIST, V. VINCENT, V. JARLIER, AND J. GROSSET. 1998. La tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis* en France durant l'année 1995. *Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire* 48: 207–208.
- COLEMAN, J., AND M. COOKE. 2001. *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. *Tuberculosis* 81: 191–202.
- 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.
- HAYDON, D. T., S. CLEAVELAND, L. H. TAYLOR, AND M. K. LAURENSEN. 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* 8: 1468–1473.
- HOLT, R. D., A. P. DOBSON, M. BEGON, R. G. BOWERS, AND E. M. SCHAUBER. 2003. Parasite establishment in host communities. *Ecology Letters* 6: 837–842.
- 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.

- KIDJO, N., FERACCI, G., BIDEAU, E., GONZALEZ, G., MARCHAND, B., AND S. AULAGNIER, 2006. Extinction and reintroduction of the Corsican red deer in Corsica. First European congress of conservation biology *Diversity for Europe*, Eger, Hungary,
- KLEIN, F., E. BAUBET, C. TOIGO, D. LEDUC, C. SAINT-ANDRIEUX, S. SAÏD, C. FRECHARD, AND M. VALLANCE. 2007. La gestion du sanglier: des pistes et des outils pour réduire les populations. Brochure ONCFS, série Technique et Faune sauvage: 29p.
- MIGNARD, S., C. PICHAT, AND G. CARRET. 2006. *Mycobacterium bovis* Infection, Lyon, France. *Emerging Infectious Diseases* 12(9): 1431-1433.
- NARANJO, V., C. GORTAZAR, J. VICENTE, AND J. DE LA FUENTE. 2008. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Veterinary Microbiology* 127: 1-9.
- NEILL, S. D., J. HANNA, J. J. O'BRIEN, AND R. M. MCCRACKEN. 1989. Transmission of tuberculosis from experimentally infected cattle to in-contact calves. *Veterinary Record* 124: 269-271.
- O'REILLY, L. M., AND C. J. DABORN. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease* 76: 1-46.
- PALMER, M. V. 2007. Tuberculosis: A Reemerging Disease at the Interface of Domestic Animals and Wildlife. *In Wildlife and Emerging Zoonotic Diseases: The Biology, Circumstances and Consequences of Cross-Species Transmission*, J. E. Childs, J. S. Mackenzie and J. A. Richt (eds.). Springer, Berlin Heidelberg, pp. 195-215.
- POLLOCK, J. M., AND S. D. NEILL. 2002. *Mycobacterium bovis* infection and Tuberculosis in cattle. *The Veterinary Journal* 163: 115-127.
- REVIRIEGO GORDEJO F.J. AND J.P. VERMEERSCH. 2006. Towards eradication of bovine tuberculosis in the European Union. *Veterinary Microbiology* 12: 101-109
- 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.
- SKUCE, R. A., S. W. MCDOWELL, T. R. MALLON, B. LUKE, E. L. BREADON, P. L. LAGAN, C. M. MCCORMICK, S. H. MCBRIDE, AND J. M. POLLOCK. 2005. Discrimination of isolates of *Mycobacterium bovis* in Northern Ireland on the basis of variable numbers of tandem repeats (VNTRs). *Veterinary Record* 157: 501-504.
- 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: 1-11.
- ZANELLA, G., B. DURAND, J. HARS, F. MOUTOU, B. GARIN-BASTUIJ, A. DUVAUCHELLE, M. FERMÉ, C. KAROUI, AND M. L. BOSCHIROLI. 2008a. *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases* 44: 99-108.
- _____, A. DUVAUCHELLE, J. HARS, F. MOUTOU, M. L. BOSCHIROLI, AND B. DURAND. 2008b. Patterns of lesions of bovine tuberculosis in wild red deer and wild boar. *Veterinary Record* 163: 43-47.
- ZANETTI, S., A. BUA, P. MOLICOTTI, G. DELOGU, A. MURA, S. ORTU, AND L. A. SECHI. 2008. Identification of mycobacterial infections in wild boars in Northern Sardinia, Italy. *Acta Veterinaria Hungarica* 56: 145-152.

IV.3. Discussion et conclusions

IV.3.1. Origine et représentativité des données

Le travail que nous présentons dans le chapitre précédent ne s'appuie pas sur des données collectées dans le cadre d'un suivi organisé de la tuberculose en Corse, mais sur une synthèse de données fragmentées, éparses et non homogènes, concernant des animaux officiellement considérés positifs à *M. bovis*, c'est-à-dire pour lesquels le diagnostic de tuberculose bovine a été confirmé par le laboratoire de référence de la tuberculose animale (AFSSA) et dont les souches ont pu être maintenues en vie. Ces cas ont été mis en évidence à l'occasion de découvertes d'abattoirs (pour les animaux domestiques) ou d'animaux malades (sangliers w5 et w9, fig. 1 et table 2, P2-IV.2), ou dans le cadre de programmes de surveillance non dédiés à cette maladie en particulier (sangliers w1-w4 et w6-w8). Dans cette dernière situation, le plan d'échantillonnage ne couvrait pas la Corse dans son intégralité (enquête ONCFS-FDC2B-DDSV2B en 2003) ou bien ne visait pas spécifiquement à étudier la présence ou la circulation du bacille.

Ces deux aspects sont des limites majeures de l'étude : au travers de notre synthèse, la tuberculose n'apparaît en Corse que dans les zones où elle a conduit à des cas symptomatiques, a été recherchée et confirmée officiellement. Or, la tuberculose animale est asymptomatique dans de nombreux cas (P1-II.3.2.3). Par ailleurs, même si du fait de l'obligation réglementaire, l'abattage légal augmente, expliquant notamment la plus grande détection de foyers domestiques récemment, de nombreux animaux en Corse ne font pas encore l'objet d'un abattage avec inspection de carcasse (P1-III.4). De plus l'origine géographique des animaux abattus n'est pas toujours connue, rendant difficile l'estimation de l'incidence (nombre de cas découverts à l'abattoir au nombre de carcasses inspectées).

Notre étude permet donc de montrer que la circulation du bacille à l'échelle de l'ensemble du territoire insulaire existe, mais pas de quantifier la prévalence.

IV.3.2. Cartographie des cas officiellement rapportés

La cartographie des cas officiellement rapportés en Corse met toutefois en évidence quatre régions de foyers domestiques récents - la région de Sartène (bovins), de Bastia - Cap Corse (bovins), la région de Tralonca (bovins) et de l'Alesani dans le sud-est de la Castagniccia (porcins). De plus, depuis 2003 dans ces mêmes régions, des sangliers porteurs de *M. bovis* sont décrits.

Ces données, trop peu nombreuses, ne nous permettent pas de démontrer l'existence de 'clusters',³² statistiquement significatifs (Cuzick and Edwards, 1990). Toutefois, il apparaît une proximité spatio-temporelle des cas de tuberculose à *M. bovis* rapportés chez les animaux domestiques et sauvages, nous autorisant à nous interroger sur le lien possible entre la tuberculose à *M. bovis* chez les animaux d'élevage et celle des sangliers. Ce d'autant plus qu'une telle interaction entre cycles domestiques et sauvages a été décrite précédemment dans d'autres systèmes méditerranéens : en Espagne (Aranaz *et al.*, 2004), en Italie continentale (Serraino *et al.*, 1999) et en Sardaigne (Zanetti *et al.*, 2008).

IV.3.3. Spolygotypage des souches de *M. bovis* isolées en Corse

Pour mieux comprendre l'interaction domestique/sauvage, nous nous sommes intéressés au typage des souches conservées au LNR à l'aide de deux techniques, le spolygotypage et le génotypage moléculaire MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit - Variable Number of Tandem Repeat). Ces méthodes de typage, notamment la méthode VNTR, encore plus discriminante que le spolygotypage, sont utilisées dans des études d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose pour mettre en évidence l'origine commune de deux isolats et attester de la transmission du bacille d'un hôte à un autre (Delahay *et al.*, 2002; Allix-Béguet *et al.*, 2007). Ces méthodes de typage moléculaire ont permis par exemple de démontrer la transmission entre les porcs et les sangliers en Estrémadure, Espagne (Parra *et al.*, 2003), entre bovins domestiques et sangliers en Ligurie, Italie (Serraino *et al.*, 1999), entre cerfs de Virginie et bovins dans le Michigan, Etats-Unis (O'Brien *et al.*, 2002), entre sangliers et bovins dans différentes régions de France (Hars *et al.*, 2006 et 2007) ou encore entre blaireaux et bovins en Irlande (O'Brien *et al.*, 2000).

Le typage des 7 isolats domestiques et 9 isolats sauvages conservés au LNR AFSSA met ici en évidence la présence de deux génotypes circulant en Corse : une souche dites BCG-like, car proche de la souche vaccinale (spolygotypage SB0120 et profil MIRU-VNTR 4-5-5-11-4), répandue aussi en France continentale (Haddad *et al.*, 2001), et une souche propre à la Corse (spolygotypage SB0840 et profil MIRU-VNTR 7-5-5-8-2). La souche corse est présente dans les 4 régions où des cas de tuberculose à *M. bovis* ont été identifiés, alors que la souche BCG-like n'a été mise en évidence que dans la région de Bastia – Cap Corse. L'hypothèse que cette souche continentale soit apparue en Corse en lien avec l'importation d'animaux,

³² "A cluster refers to a grouping of health-related events that are related temporally and in proximity". <http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/cluster/definition.html> Disease Clusters: An Overview Definition of Disease Clusters from the United States Department of Health and Human Services

domestiques ou sauvages, ne peut être exclue. Elle ne peut toutefois pas non plus être confirmée à partir des seules données dont nous disposons.

A l'exception du plus récent cas de sanglier tuberculeux (Furiani 2008, w9, P2-IV.2), nous mettons en évidence que les souches domestiques et sauvages d'une même région ont des profils moléculaires identiques (cf. P2- IV.2, p.149, Fig. 1). Les résultats de l'analyse moléculaire des souches de *M. bovis*, associés à leur cartographie, suggèrent donc très fortement qu'en Corse, animaux domestiques et sauvages sont impliqués dans un même cycle épidémiologique. En revanche, compte tenu notamment de données trop peu nombreuses et discontinues temporellement, nous ne pouvons déduire de notre étude si l'animal domestique est source de mycobactéries pour les sangliers et/ou l'inverse. D'un point de vue épidémiologique en effet, une des inconnues demeure le rôle précis de chacun des hôtes identifiés ici comme porteurs du bacille : les bovins, les porcs et les sangliers.

IV.3.4. Rôles possibles des hôtes domestiques

- Les bovins

La prévalence de la tuberculose chez les bovins en Corse est difficile à estimer de manière précise. Compte tenu des difficultés d'application des mesures de prophylaxie dans les élevages (intraderno-tuberculination) et du fait qu'une partie des bovins est encore abattue hors abattoir, il paraît en revanche très probable que la maladie est sous-diagnostiquée dans cette espèce. Or le contexte insulaire d'élevage en libre parcours offre certainement une possibilité de dissémination de *M. bovis*. Nous pouvons donc penser que les vaches jouent un rôle épidémiologique majeur dans la persistance de la maladie sur l'île.

De plus, il existe sur l'île des vaches marronnées, vivant à l'état sauvage c'est-à-dire n'étant plus sous le contrôle de leur propriétaire. Dans la région de Sartène, où les derniers foyers bovins ont été détectés, ce phénomène concernerait plusieurs dizaines d'individus, et pourrait menacer l'efficacité des mesures de prophylaxie, pourtant appliquées avec conscience dans les élevages avoisinants (Lacanal, com. pers.). En effet, chez ces vaches marronnées, au comportement farouche voire nocturne, le contrôle sanitaire est impossible. Il est donc probable que ces animaux jouent un rôle épidémiologique important dans la propagation et la persistance locale de la tuberculose dans l'environnement. Les autorités sanitaires en lien avec le LNR de l'AFSSA souhaiteraient pouvoir envisager un abattage total de ces vaches « sauvages », mais à l'heure actuelle cette opération, particulièrement délicate pour des raisons sociopolitiques et techniques, n'a pas pu être menée à bien. Au-delà de l'impact direct en termes d'apaisement local du problème, cette opération pourrait permettre d'acquérir des

données épidémiologiques nouvelles (prévalence de lésions et de portage du bacille) et de mieux comprendre le rôle de ces bovins dans la circulation de la tuberculose en Corse.

- Les porcs d'élevage

Le porc domestique est un hôte sensible à la tuberculose bovine qui semble pouvoir être une bonne sentinelle de la présence du bacille dans le milieu du fait qu'il se contamine davantage par voie interspécifique que intraspécifique (Nugent *et al.*, 2002). Le rôle de cette espèce en tant que réservoir de mycobactéries n'a par ailleurs jamais été décrit. En Corse, dans la vallée où des porcs tuberculeux ont été mis en évidence à l'abattoir, aucune présence de bovin tuberculeux n'a été rapportée officiellement. Toutefois, dans cette micro-région, l'abattage fermier des bovins est encore très présent, à l'instar de celui des porcs (Fig. 6). Aussi nous ne pouvons pour le moment savoir si l'infection symptomatique observée chez les porcs indique la présence établie dans cette vallée d'une tuberculose d'origine domestique (bovin) ou bien sauvage (sanglier). Nous ne pouvons pas non plus dater l'infection comme récente ou ancienne : dans les deux cas porcins, les animaux présentaient des lésions macroscopiques de tuberculose généralisée (Delor, com. pers.) ; mais, dans certaines circonstances, dès 4 mois après infection un porc peut présenter des lésions généralisées de tuberculose (Nugent *et al.*, 2002).

IV.3.5. Gestion des carcasses et circulation du bacille

L'équarrissage des animaux domestiques est un service récent en Corse et son utilisation est encore minoritaire. Le plus souvent les animaux morts sont encore abandonnés sur le parcours d'élevage, dans le maquis ou le bois. Dans deux des micro-régions concernées par des foyers domestiques de tuberculose, la vallée de l'Alesani et la région de Tralonca, plusieurs chasseurs nous ont rapporté la présence effective de cadavres de vaches dans le maquis.

Concernant la chasse, de la même manière, la pratique la plus répandue est encore l'abandon sans traitement des viscères et des restes de carcasses de gibier sur le lieu de découpe.

Or, le bacille de la tuberculose bovine est capable de survivre dans les carcasses pendant plusieurs semaines (Delahay *et al.*, 2002), et même plusieurs mois dans le sol après contamination (P1-II.3.2.3). Par ailleurs, les lésions observées chez les sangliers tuberculeux depuis 2006 (P2-IV.2, Table 2) semblent indiquer que les animaux se sont contaminés par voie orale, c'est-à-dire par ingestion de carcasse contaminée.

La question des cadavres comme source possible d'entretien de la tuberculose bovine et cause de transfert domestique-sauvage (hôte messenger) apparaît donc particulièrement importante à considérer, notamment en vue de la prévention de la circulation du bacille de la tuberculose bovine en Corse. Nous reviendrons sur la question de la gestion des déchets de chasse dans la troisième partie de ce manuscrit (P3-II.2).

IV.3.6. La tuberculose et la faune sauvage en Corse : des questions en suspens...

IV.3.6.1. ... concernant le sanglier : victime ou réservoir ?

Dans certaines conditions écologiques, comme dans plusieurs régions d'Espagne, le sanglier semble pouvoir être réservoir de tuberculose bovine (P1-II.2.1.3.b). Dans les nouveaux états membres de l'Union Européenne, où les mesures de prophylaxie sont allégées, cette question du sanglier comme réservoir sauvage se pose aussi (Pavlik, 2006).

En Corse, étant donné le peu de données disponibles chez le sanglier, nous ne pouvons pas conclure quant au rôle de cet hôte dans la circulation de la tuberculose bovine. Il est très probable d'ailleurs que la situation ne soit pas homogène à l'échelle de la région insulaire, les pratiques cynégétiques et d'élevage, et par conséquent les interactions entre les animaux domestiques et sauvages, n'étant elles-mêmes pas homogènes.

Toutefois, la découverte récente de nouveaux cas de sangliers tuberculeux, avec des lésions importantes, soulève des questions préoccupantes liées à la place actuelle mais aussi potentiellement future du sanglier dans la circulation de la tuberculose bovine en Corse. En effet, une fois qu'une population sauvage est infectée, la maladie peut devenir endémique et cette population devenir réservoir de la maladie (Zanella, 2007). Nous ne pouvons pas exclure que le sanglier ne soit actuellement qu'une « victime », et une sentinelle de la situation non-maîtrisée chez les bovins en Corse, et non un réservoir, c'est-à-dire que l'infection ne puisse se maintenir dans les seules populations de sangliers. Mais, d'une part cette hypothèse épidémiologique, quoique largement relayée par certains des acteurs de la chasse en Corse, reste à être confirmée ou infirmée. D'autre part, la situation peut évoluer vers un phénomène inverse où le statut sanitaire des bovins, mieux maîtrisé, serait « menacé » par une contamination retour (spill-over) à partir d'un réservoir sauvage alors constitué (Haydon *et al.*, 2002). Ce cas de figure a été par exemple observé dans deux parcs nationaux canadiens où bisons et wapitis contaminent les bovins (Nishi *et al.*, 2006). De même, en Grande-Bretagne, le réservoir sauvage du bacille pour les bovins est le blaireau (Delahay *et al.*, 2002). Notons d'ailleurs que blaireau et sanglier occupent des niches écologiques relativement voisines.

Dans les cas ci-dessus, les réservoirs sauvages se sont constitués à partir des foyers domestiques. En Corse, ce processus est tout à fait envisageable, les animaux marron et les carcasses non équarries jouant le rôle d'hôte messenger du milieu domestique vers le milieu sauvage et vice-versa.

Pour objectiver la place du sanglier en tant qu'hôte secondaire, vecteur ou bien réservoir, et proposer une gestion adaptée au système insulaire de la tuberculose dans la faune sauvage, des données complémentaires sont donc nécessaires en particulier sur la prévalence du portage de *M. bovis* chez le sanglier. L'estimation de cette donnée est confrontée nous semble-t-il à quatre difficultés prédominantes : l'absence de corrélation entre l'observation des lésions et la présence avérée du bacille, la difficulté sur le terrain de prélever le matériel biologique adéquat pour la détection d'un portage (les ganglions céphaliques n'étant pas toujours facilement identifiables), le risque pour le préleveur de s'infecter, et la durée d'obtention d'un résultat diagnostique validé (délai de lecture du résultat en culture bactérienne) (P1.II.3.2.3). Le développement et la validation de nouveaux outils de détection pour l'étude de la tuberculose dans les populations de sangliers est donc un enjeu important.

Les techniques de biologie moléculaire permettant d'amplifier et de détecter l'ADN de bacille (méthode PCR) dans les échantillons représentent une perspective intéressante du fait de leur rapidité d'obtention de résultat. Pour le moment toutefois, aucun de ces tests n'a atteint le niveau de sensibilité et de spécificité de la culture bactérienne (Hénault et al., 2006). Par ailleurs le tissu le plus approprié pour la recherche PCR demeure les ganglions céphaliques, ce qui reste une des limites à l'utilisation en pratique de la méthode (voir ci-dessus, IV.3.6).

Le test ELISA développé par Aurtenetxe et al. (2008) en Espagne pourrait constituer une perspective intéressante. Ce test mis au point pour l'étude à grande échelle de la réponse humorale à *M. bovis* chez le sanglier possède une bonne sensibilité, par comparaison aux tests similaires développés chez les bovins notamment (72,6% contre 18,1% à 37,5%), et une très bonne spécificité (96,4%) (Aurtenetxe *et al.*, 2008). Appliqué à notre système d'étude dans un premier temps, pour des questions logistiques, de manière focalisée sur les régions des foyers identifiés, l'utilisation de ce test permettrait de renseigner l'ampleur de la tuberculose chez le sanglier dans ces zones.

IV.3.6.2. ... concernant le cerf

La question de la constitution d'un réservoir sauvage intéresse aussi en Corse l'introduction de cerfs. Des populations de taille suffisante de cet hôte, très sensible à *M. bovis*, peuvent en effet maintenir la mycobactérie et la transmettre au bétail, comme observé dans le Michigan, Etats-Unis (Payeur *et al.*, 2002) ou en forêt de Brotonne, France (Zanella *et al.*, 2008). En Corse, en 2005, le nombre de cerfs était estimé à environ 200 individus (Kidjo *et al.*, 2006), répartis en plusieurs noyaux de populations (cf. P2-IV.2, p.149, Fig. 1). Jusqu'à présent aucun cas cerf trouvé mort et tuberculeux n'a été rapporté sur l'île.

Toutefois, la tuberculose chez cette espèce nous paraît importante à considérer sérieusement. D'une part des nouveaux lâchers d'introduction, réalisés à partir d'animaux élevés dans une zone située à 30km du récent foyer porcin de tuberculose, sont programmés dans les années à venir. D'autre part le cerf, qui se nourrit pour partie de plantes herbacées (Bugalho and Milne, 2003), est en théorie encore plus en contact avec les bovins que les sangliers. Cet aspect de la biologie de l'espèce pourrait faciliter la contamination des individus par le bacille tuberculeux, capable de survivre dans le sol (Zanella, 2007). Enfin, l'augmentation des densités de cerfs peut-être un facteur favorisant le maintien du bacille chez cette espèce : en Nouvelle-Zélande en effet, dans les régions où la densité de cerfs est supérieure à 15 individus au km², l'espèce est devenu réservoir de *M. bovis* (Nugent, 2004).

Compte tenu de ces éléments, une vigilance particulière devrait être portée au dossier d'introduction du cerf en Corse, en termes de connaissance du statut sanitaire des cerfs introduits, de leur lieu de relâcher et de leur suivi démographique et sanitaire. En effet, si cette opération est mal maîtrisée, l'installation de l'infection dans de la population est à craindre, avec des conséquences en terme de contrôle de la maladie sur l'île qui seraient dramatiques. La constitution d'une communauté d'hôtes multiples, domestiques et sauvages, étant une des clés d'établissement durable d'un agent pathogène dans un écosystème (Holt *et al.*, 2003). Dans un tel cas, tout effort de gestion de la maladie dans l'un des compartiments risquerait d'être compromis par le retour, ou spill-over, de l'infection à partir des autres.

IV.3.7. Conclusions et risque zoonotique de tuberculose en Corse

Les questions concernant la tuberculose bovine dans la faune sauvage en Corse doivent être traitées en parallèle d'une meilleure maîtrise de la tuberculose chez les bovins. Que ce soit chez l'animal domestique ou sauvage, il nous semble en effet important d'améliorer la connaissance et la maîtrise de la situation afin que celle-ci ne se détériore pas

davantage et nécessite des mesures de gestion draconiennes comme en forêt de Brotonne (réduction massive et/ou abattage total des effectifs d'ongulés sauvages) (Hars *et al.*, 2003; Zanella *et al.*, 2008).

Par ailleurs, du fait de la présence de sangliers présentant des lésions, et la possibilité de contamination des chasseurs via des aérosols ou par voie orale au moment de la découpe (Neill *et al.*, 1989), le risque zoonotique direct lié au sanglier ne devrait pas être négligé en Corse. Aussi, parallèlement à des investigations complémentaires pour mieux comprendre la circulation du bacille, il nous semble important qu'un travail de prévention autour de cette maladie soit poursuivi auprès des chasseurs, par l'intermédiaire notamment des fédérations de chasse. Ce travail doit notamment intégrer une information sur la reconnaissance des lésions, les mesures de prévention et la démarche à suivre pour confirmation de diagnostic en cas de suspicion. Concernant ce dernier point, la DDSV2A met à disposition les services des techniciens d'abattoir, mais des réticences fortes persistent à l'utilisation de ces services, la crainte de se voir imposer des limitations de chasse en cas de confirmation de cas étant très ancrée.

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION GENERALE

La partie précédente de cette thèse nous a permis de présenter les travaux menés sur trois agents zoonotiques chez le sanglier en Corse. En dégageant de ces expériences les aspects transversaux, nous allons maintenant revenir sur la problématique générale de notre thèse, les zoonoses du sanglier en tant que gibier. Aussi, nous nous proposons de discuter plus largement des limites, des avancées et des perspectives de l'évaluation quantitative, de la gestion et de la surveillance du risque zoonotique lié aux sangliers en Corse, avant de conclure cette troisième partie par une réflexion synthétique sur le risque et la surveillance des zoonoses du gibier en général.

I. Evaluation du risque zoonotique lié au sanglier en Corse

L'évaluation quantitative du risque zoonotique se décompose en plusieurs étapes (cf. P1-I.2, p.21). Dans ce premier chapitre nous allons discuter les avancées et limites de nos travaux en Corse concernant ces différentes étapes.

I.1. Identification des dangers

L'étape d'identification des dangers permet de répondre à la question de l'existence ou non du risque lié à tel ou tel agent zoonotique. A l'issue de notre étude, concernant *Trichinella britovi*, nous ne pouvons confirmer la présence actuelle du danger, même s'il l'était en 2004. En revanche, l'existence d'un risque zoonotique lié à *Toxoplasma gondii* et *Mycobacterium bovis* chez les sangliers en Corse est avérée. Dans l'objectif d'une évaluation quantitative du risque, des travaux complémentaires pour identifier l'ensemble des dangers parasitaires, bactériens ou viraux transmissibles à l'Homme par contact direct avec les sangliers en Corse seraient à mettre en œuvre. Une des difficultés de ce travail demeure la survenue de maladies émergentes dans les populations sauvages. Ces maladies sont généralement imprévisibles et l'agent pathogène difficile à détecter car inconnu ou mal connu (Artois *et al.*, 2003). En Corse, l'analyse du risque zoonotique lié aux maladies émergentes dans les populations de gibier doit donc notamment intégrer une meilleure connaissance des dangers existant sur l'île ou potentiellement présents, compte tenu de l'espèce (cf. P1-II.3.1, p.38) et du lieu. De par la position géographique de la Corse en Méditerranée, ce dernier point intéresse particulièrement la veille sanitaire sur les maladies de la faune sauvage dans les pays voisins, qui doit permettre d'améliorer la prévision de la survenue des dangers et la prévention des conséquences d'une épizootie.

Etant donnée la proximité phylogénétique entre porc et sanglier, il est tentant de vouloir s'appuyer sur des études chez le porc pour orienter les investigations sur les dangers liés au sanglier. Les dangers zoonotiques au risque particulièrement élevé identifiés chez le porc d'élevage intensif sont la listériose (*Listeria monocytogenes*), le botulisme (*Clostridium botulinum*) et la tuberculose (*Mycobacterium spp.*) (Fosse *et al.*, 2008). Toutefois la transposition de ces résultats à du gibier sauvage, vivant en Corse en interaction avec des animaux domestiques en système extensif, est délicate puisque notamment l'écosystème liant pathogènes et hôtes n'est pas le même, les conditions d'abattage et de découpe sont différentes, et donc le risque de contamination des carcasses n'est pas semblable.

L'objectif d'évaluation du risque peut par ailleurs être à raisonner en fonction de la gravité des dangers potentiels (cf. P1-II.3, p.38). En effet, des investigations larges et exhaustives sont coûteuses et lourdes à mettre en place, l'accès à des prélèvements sur carcasse de sanglier étant lié à la volonté des chasseurs. Aussi, d'axer plus particulièrement les recherches sur des dangers dont le risque est potentiellement élevé (présence avérée du parasite) et les conséquences en santé publique sensibles peut être une option opérationnelle pertinente (Chevassus-au-Louis, 2002). Dans ce cadre, deux autres agents zoonotiques pourraient à notre sens faire l'objet d'investigations chez le sanglier : *Alaria alata* et le virus de l'hépatite E.

Un nombre croissant de cas liés à l'expression du virus de l'hépatite E (HEV) a été récemment rapporté en Grèce, en Espagne, en Italie, aux Etats-Unis et au Japon (Mansuy *et al.*, 2004). En France, entre 2008 et 2009, une vingtaine de cas humains, graves pour certains, d'hépatite E liée à la consommation de charcuterie locale corse ou de figatelli (saucisses crues à base de foie de porc) ont été rapportés³³. Le porc est en effet un hôte sensible au HEV et pourrait jouer un rôle comme réservoir viral. Le sanglier est aussi une source possible du virus pour l'Homme. En Espagne, l'exposition au virus des sangliers du centre-sud du pays atteint 42,7% (sérologie) (de Deus *et al.*, 2008), alors qu'au Japon, des cas sporadiques d'hépatite E aigüe liés à la consommation de foie cru ou insuffisamment cuit de sanglier ont été décrits (Tei *et al.*, 2003; Tamada *et al.*, 2004). En Corse, des morceaux de foie de sanglier peuvent être incorporés à la fabrication de charcuterie locale (Casabianca, 1996). Dans ce contexte, l'objectivation de la présence du danger et une analyse de risque d'hépatite E lié au sanglier en Corse semblent donc pleinement justifiées et mériteraient des investigations supplémentaires.

³³ AFSSA, Saisine n° 2009-SA-0101 : Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'avis sur « le risque de contamination humaine par le virus de l'hépatite E (VHE) après ingestion de figatelles ».

En parallèle de nos travaux sur le sanglier, nous avons mené en Corse une analyse parasitaire chez le renard, sentinelle d'helminthes d'intérêt zoonotique. Un des résultats préliminaires de cette analyse est la mise en évidence en plaine orientale du trématode *Alaria alata* chez un renard (donnée non publiée), hôte définitif de ce trématode. En tant qu'hôtes secondaires, les sangliers peuvent être infestés massivement (Möhl *et al.*, 2009). Le parasite est alors détectable chez cette espèce grâce à la même méthode que les larves de trichinelles, la digestion artificielle sur muscle strié. En Corse, aucun des sangliers testés ne semblait être porteur de ce trématode. Toutefois, étant donnée la gravité des symptômes chez l'Homme qu'entraîne ce parasite, une vigilance devrait être à notre sens maintenue, notamment sur la façade est de l'île, le parasite étant davantage inféodé aux écosystèmes humides (Möhl *et al.*, 2009).

I.2. Caractérisation des dangers dans la population source

L'étape de caractérisation des dangers liés au sanglier intéresse notamment l'estimation quantitative du danger (cf. P1-I.2, p.21), c'est-à-dire l'estimation de la prévalence de l'agent zoonotique dans les populations chassées et plus généralement l'approfondissement des connaissances concernant le statut sanitaire de ces populations et la circulation de l'agent zoonotique. Aussi, cette étape nous renvoie à plusieurs niveaux de discussion générale : avantages et limites des méthodologies de détection directe ou indirecte (sérologie) de l'agent zoonotique chez le sanglier, échantillonnage et caractéristiques de la population chassée, et place de l'hôte gibier dans la circulation de l'agent pathogène. Ces différents points de discussion sont développés ci-après à partir de réflexions issues de nos exemples d'études.

I.2.1. Méthodologies diagnostiques

Pour étudier une infection chez un hôte, des méthodes de détection directe ou indirecte peuvent être utilisées. Les méthodes de détection directe que nous avons utilisées sont des méthodes permettant l'isolement de l'agent zoonotique : la digestion artificielle pour la trichinellose, l'isolement par inoculation à la souris pour la toxoplasmose et la mise en culture pour la tuberculose.

D'autres méthodes de diagnostic direct par amplification du génome (PCR) sont disponibles chez l'animal pour de nombreux agents zoonotiques (Rodriguez, 1997), y compris ceux de notre étude (MacPherson and Gajadhar, 1993; Hyman *et al.*, 1995 ; Pozio and La Rosa, 2003; Hénault *et al.*, 2006). Ces techniques, basées sur la mise en évidence d'ARN ou

d'ADN des germes ou parasites, présentent l'avantage d'être généralement très sensibles, ce qui permet la mise en évidence notamment des virus pour lesquels la virémie est souvent faible. Elles permettent de plus d'objectiver la présence de l'agent pathogène même s'il est présent en très faible quantité ou dans des prélèvements non appropriés pour la culture (e.g. après congélation). Elles sont enfin d'excellente spécificité, si les amorces sont appropriées. Toutefois, contrairement aux techniques d'isolement, elles ne permettent pas de conserver la souche. Par ailleurs de l'ADN d'organisme non viable peut être détecté, et des risques de contamination des prélèvements existent, notamment avec des PCR très sensibles comme la PCR nichée. La qualité des prélèvements doit donc être appropriée pour utiliser ce type de méthode, ce qui n'est pas forcément évident à obtenir en faune sauvage.

Les méthodes indirectes, sérologiques, mettent quant à elles en évidence uniquement les anticorps dirigés contre l'agent zoonotique recherché. Elles n'attestent pas des mêmes phénomènes biologiques que les méthodes d'isolement : ces dernières attestent de l'infection, l'envahissement et l'établissement par l'agent zoonotique alors que les méthodes sérologiques signent une réponse immunitaire de l'hôte (production d'anticorps) en réponse à un contact, une exposition au danger étudié. La comparaison des résultats obtenus par les deux méthodes, aux avantages et limites différentes, est donc souvent difficile. Pourtant chacune des deux méthodes présente des avantages et des limites et, dans l'idéal, sont complémentaires.

I.2.1.1. Isolement de l'agent zoonotique

Concernant l'analyse de risque zoonotique, seule la présence avérée du danger, mise en évidence par l'isolement de l'agent, permet d'attester d'un risque effectif lié au contact avec un gibier, confirmé comme réellement infecté, et l'estimation de la prévalence de l'infection vraie dans la population étudiée. Dans l'étude de la trichinellose par exemple notre démarche a donc été de rechercher en premier lieu la présence de larves de *Trichinella* dans le but de mesurer le risque direct de contamination de l'Homme.

Une fois isolé, l'agent zoonotique peut être typé, permettant d'attester de l'identité entre les souches circulant chez l'animal sauvage et celles responsables de la maladie chez l'Homme dans la zone considérée. En Corse, nous mettons ainsi en évidence que *T. gondii* de type II est présent chez le sanglier, ce type étant celui qui est majoritairement mis en évidence dans les cas symptomatiques de toxoplasmose chez l'Homme en Europe (Ajzenberg *et al.*, 2002). Par ailleurs, la souche isolée peut être conservée, autorisant des études d'épidémiologie moléculaire a posteriori : la comparaison moléculaire entre les souches

domestiques et sauvages de *M. bovis* en Corse a été rendue possible par la remise en culture et le typage des souches des anciens foyers conservées au LNR.

Toutefois, ces méthodes de détection directe sont bien souvent lourdes à mettre en œuvre, longues et coûteuses. Pour la trichinellose, la digestion artificielle demande plusieurs heures de manipulation en laboratoire et les étapes de dilacération des échantillons, permettant de séparer le muscle analysable des aponévroses, puis de lecture sous loupe binoculaire des produits de digestion sont particulièrement fastidieuses. Pour la toxoplasmose, la collecte du cœur et son acheminement jusqu'au laboratoire de référence, sous emballage spécial, est nécessaire ; ensuite, l'inoculation à la souris nécessite une infrastructure expérimentale assez lourde (cf. P2-III.2, p.111). Pour l'isolement de *M. bovis*, l'obtention du résultat de mise en culture est de plusieurs semaines.

Par ailleurs la détection de l'agent zoonotique peut être infructueuse si la charge parasitaire chez l'hôte est inférieure au seuil de détection de la méthode, comme dans le cas de la trichinellose (cf. P2-II.3.1, p.103), ou bien si le tissu prélevé est incorrect car difficilement repérable sur la carcasse, comme les ganglions céphaliques dans le cas de la tuberculose. Dans les trois exemples de notre étude, pour la recherche directe des trois agents zoonotiques, l'organe ou les tissus à prélever étaient d'ailleurs différents, ce qui, en pratique, limite les études simultanées à grande échelle de plusieurs zoonoses.

Ainsi, les méthodes d'isolement bactérien, viral ou parasitaire présentent des avantages certains, mais permettent parfois difficilement le suivi épidémiologique de l'espèce. C'est pourquoi des méthodes indirectes de détection d'anticorps sont utilisées.

I.2.1.2. Détection d'anticorps

Plus faciles à mettre en œuvre, sur le terrain comme en laboratoire, les méthodes sérologiques sont particulièrement intéressantes pour des études d'épidémiosurveillance. La possibilité actuellement de rechercher des anticorps sur du fluide musculaire renforce d'autant plus l'intérêt de ces méthodes pour la surveillance d'agent pathogènes multiples (cf. P2. III.4.2, p.134).

Toutefois l'interprétation des résultats sérologiques obtenus chez l'animal sauvage se heurte d'une part à une méconnaissance de la réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis de l'agent pathogène, et d'autre part à des questions méthodologiques en lien avec les propriétés de sensibilité et de spécificité des tests, mis au point chez l'animal domestique mais généralement pas validés chez l'animal sauvage (Daszak *et al.*, 2000; Bengis *et al.*, 2002).

- Réponse immunitaire de l'hôte

La présence d'anticorps chez un hôte est conditionnée par la cinétique de production de ces anticorps en réaction spécifique à l'exposition de l'hôte à un agent zoonotique donné, c'est-à-dire au délai entre l'infection et la réponse du système immun, puis la persistance des anticorps. Ces données sont parfois renseignées par des études expérimentales chez l'animal domestique mais beaucoup plus rarement chez les suidés sauvages (Kapel, 2001), du fait de la lourdeur des études expérimentales. Pour le sanglier, la dynamique de la réponse immunitaire sur du long terme est donc déduite de celle observée chez le porc : par exemple, lors d'infestation par *T. britovi* chez le porc adulte, des anticorps sont détectables en grande quantité au delà de 40 semaines après infestation, suggérant une persistance longue des anticorps (Kapel and Gamble, 2000). Cependant, en fonction de l'agent pathogène étudié, cette réponse humorale est elle-même plus ou moins bien connue chez le porc, ou bien selon les classes d'âge.

- Caractéristiques des tests sérologiques

Comme nous avons pu en discuter au chapitre P3-II.3 et P3-III.4, l'interprétation des résultats de tests sérologiques utilisés chez le sanglier soulève des questions liées aux caractéristiques du test, qui ne peuvent pas bénéficier d'une comparaison avec une méthode de spécificité et sensibilité parfaites et dite de référence (gold standard).

Les méthodes de type ELISA utilisent des antigènes d'espèce. Porc et sanglier étant proches d'un point de vue taxonomique, l'interprétation de résultats obtenus chez le sanglier à partir de ces méthodes développées chez le porc ne devraient donc, en théorie, pas poser de problème. Et pourtant, des questions de sensibilité et de spécificité demeurent (cf. P2-II.3, p.103). En effet une distorsion entre les résultats obtenus dans des conditions expérimentales, chez le porc, et celles de terrain, chez le sanglier, peut exister en raison notamment de réactions croisées avec d'autres germes chez l'animal sauvage (Garin-Bastuji *et al.*, 2000).

Discriminer les individus séropositifs des séronégatifs impose alors le choix d'une valeur seuil (cut-off). La sensibilité et la spécificité des tests utilisés n'étant pas parfaites, ce choix implique que certains individus seront à tort considérés comme positifs ou négatifs. Le plus souvent les vrais-positifs sont déduits de la possibilité d'isoler l'agent zoonotique chez l'individu suspect. Toutefois certains individus peuvent présenter des anticorps en l'absence de l'établissement de l'agent pathogène, comme dans le cas de la trichinellose (cf. P2-II.3,

p.103), et la corrélation entre la présence d'anticorps et celle de l'agent pathogène sera mauvaise.

- Interprétation des résultats sérologiques : l'approche mathématique

En l'absence de méthode de référence, et de cohorte d'animaux témoins positifs pour la détermination de la valeur seuil d'interprétation, les approches mathématiques peuvent être d'un grand apport. L'hypothèse de base de ces approches est que l'échantillon étudié contient deux sous-populations : celle des animaux ayant des anticorps contre l'infection étudiée (ce qui sous-tend une bonne spécificité du test sérologique), et celle des autres individus qui n'en n'ont pas (cf. P2-II.3.2.1, p.103). Sous cette hypothèse, les valeurs prises par la variable de réponse au test sérologique se répartissent selon une distribution bimodale, résultant d'un mélange de deux lois de probabilités. En posant l'hypothèse, par exemple, que la distribution de la réponse sérologique est un mélange de deux lois normales, les paramètres de ces lois peuvent alors être estimés ainsi que la proportion d'individus dans chacun des deux groupes d'individus. En fonction d'un critère de sensibilité ou de spécificité choisi au départ, un seuil peut ensuite être déterminé. L'estimation des paramètres de lois de distribution ne fait pas forcément appel à l'utilisation de méthodes bayésiennes, mais ces dernières sont particulièrement appropriées pour mettre en œuvre ce principe et leur utilisation ouvre des perspectives très intéressantes (Goris *et al.*, 2007; Mainar-Jaime and Barberán, 2007; Teunis *et al.*, 2009; Frey *et al.*, 2009). Chez l'animal sauvage elles semblent toutefois peu appliquées pour le moment (Mintiens *et al.*, 2005).

Dans notre étude sur la trichinellose, l'utilisation de l'approche statistique ne permet pas de conclure davantage pour le moment sur la séroprévalence de la maladie chez les sangliers en Corse car les résultats obtenus suscitent de nouvelles questions majeures. Notamment, l'hypothèse d'une réponse sérologique effective présente dans près de la moitié de la population (43,4 %, cf. annexe 3, p.190) pose la question de la spécificité du test. Aussi, si l'avantage de l'approche statistique est l'estimation de la vraie proportion de porteurs d'anticorps dans un échantillon, les résultats de cette méthode restent liés aux hypothèses qui sont faites, à savoir la distribution bimodale (voire bi-normale) et l'infection vraie des individus porteurs d'anticorps (et non des réactions croisées).

Des travaux complémentaires sont donc nécessaires et une réflexion sur la validation des tests spécifiques à la faune sauvage doit donc être poursuivie.

I.2.2. Echantillonnage et connaissance de la population source

Parallèlement aux questions liées aux outils diagnostiques, la qualité de l'estimation de la prévalence d'une zoonose dans une population repose sur le plan d'échantillonnage, et notamment sur la représentativité de l'échantillon analysé vis-à-vis de la population de référence. Ce qui renvoie à deux aspects discutables : la méthode d'échantillonnage et les biais qu'elle induit, mais aussi la connaissance de la population de référence.

I.2.2.1. Méthodes d'échantillonnage

Dans notre étude, le plan d'échantillonnage est basé sur la collecte d'animaux tués à la chasse et de prélèvements effectués par des chasseurs volontaires. Cette réalité implique que l'échantillonnage est saisonnier : nos prélèvements ne s'échelonnent que d'août à janvier, avec davantage d'échantillons collectés en octobre, novembre. Par ailleurs l'échantillonnage n'est pas aléatoire en termes de répartition géographique des prélèvements mais aussi de sexe-ratio ou âge-ratio. Biais de recrutement propre à l'activité de chasse locale, mais aussi à la nature du prélèvement demandé, nous avons peu d'individus de moins de 1 an dans notre échantillon qui a servi de base à l'étude de la trichinellose et de la toxoplasmose : d'une part il semble que les marcassins soient moins tirés localement (contrairement aux pratiques cynégétiques habituelles, cf. P1-II.2.4, p.35), mais surtout l'identification du pilier du diaphragme sur un jeune animal est plus difficile, la taille du muscle prélevé insuffisante pour la recherche de larve de *Trichinella* et le volume de fluide musculaire extrait trop faible, n'autorisant que peu d'aliquotes pour des analyses sérologiques multiples. Le fait d'avoir peu d'individus jeunes, c'est-à-dire particulièrement sensibles à l'agent pathogène, peut entraîner la sous-détection des maladies (Rossi, 2005). Connaissant une partie des biais de notre méthode d'échantillonnage, il est toutefois difficile de savoir les corrections exactes à apporter à nos estimations car la population d'origine est mal connue.

I.2.2.2. Population de référence

Cette méconnaissance de la population de référence d'un point de vue des effectifs, mais aussi de la structure démographique et spatiale, est un problème récurrent dans les études des populations sauvages, car la représentativité de l'échantillon est difficile à apprécier (Lancia *et al.*, 1994; Moutou, 2000).

Dans le cas qui nous intéresse ici, celui de l'estimation du risque zoonotique, mieux connaître la population de référence est une donnée importante pour apprécier les différences

entre la structure de la population et celle des échantillons issus de la chasse, et pouvoir estimer des prévalences ajustées notamment. Actuellement, par exemple, les jeunes individus sont sous-échantillonnés, mais les prévalences des maladies ne peuvent être corrigées tant que l'ampleur du biais de sélection reste inconnue.

Concernant les populations de gibier, l'estimation des effectifs présents est très souvent déduite des effectifs chassés mais comporte de nombreux biais du fait que l'effort de chasse n'est produit qu'une partie de l'année et n'est pas homogène sur un territoire donné (Acevedo *et al.*, 2007). En Corse, cette déduction est d'autant plus difficile à réaliser que les effectifs officiellement chassés sont difficiles à obtenir du fait du peu de retour des carnets de battue, ou approximatifs puisque ne prenant pas en compte les effectifs braconnés.

Chez le sanglier, d'autres méthodes d'estimation plus précises des effectifs et de leur répartition spatiale ont été développées : capture-recapture (Massei *et al.*, 1997; Sweitzer *et al.*, 2000), transects de collectes d'indices de présence (fèces) (Acevedo *et al.*, 2007) ou d'observation (Focardi *et al.*, 2002). Appropriée pour des études à petite échelle, la technique de capture-marquage-recapture (CMR) de sangliers n'est pas raisonnablement envisageable à l'échelle d'un territoire comme la Corse et est lourde à mettre en œuvre. La collecte de fèces nous semble peu pertinente du fait de la présence de porcs d'élevage en libre parcours, dont les laissées viendraient perturber la détection de fèces de sanglier sauvage. Nous avons en revanche réfléchi à mettre en œuvre la réalisation de transects d'observation nocturne, en lien avec l'équipe italienne développant cette méthode. Demandant un investissement en matériel (caméra infra-rouge) et en temps important, ce projet a été suspendu. A titre d'exemple, pour pouvoir estimer la densité de population dans une zone de 6 000 ha, 80 km de transect sont nécessaires (Calmanti, com. pers.). Compte tenu de la densité du milieu naturel corse (maquis et forêts denses), gênant la visibilité, la pression de terrain aurait d'ailleurs dû être encore plus forte. Cette méthode ne pourrait bien sûr pas être envisagée sur toute la région insulaire. Moins lourde toutefois que les opérations de CMR, elle permettrait de comparer localement les résultats obtenus par cette méthode à ceux relatés par les tableaux de chasse, puis par extrapolation d'affiner dans une certaine mesure les estimations de densité et de mieux appréhender la structuration spatiale des populations.

I.2.3. Rôle de l'hôte gibier dans la circulation du pathogène

L'un des enjeux de l'analyse de risque de maladies zoonotiques liées au sanglier en Corse est de mieux connaître le rôle de la population de gibier dans la circulation des agents zoonotiques et globalement les interactions hôtes-pathogènes : quelle est la place du sanglier dans la circulation de *M. bovis* en Corse et peut-il devenir réservoir du bacille (cf. P2-IV.3.6.1, p.154) ? Comment estimer les interactions spatiales entre les sangliers et les chats, excréteurs de formes infestantes de *T. gondii* (cf. P2-III.4, p.136) ? Etc.

Pour pouvoir répondre à ces questions, la prise en compte de la dynamique spatio-temporelle des espèces hôtes est nécessaire : la structure démographique, les densités de population mais aussi le comportement spatial des individus influencent la propagation et la dynamique des agents pathogènes (Sauvage and Pontier, 2005). Dans notre système d'étude, les individus sont chassés, ce qui façonne d'autant plus la structure spatiale et démographique des populations de sangliers et peut favoriser la propagation de maladie : la dispersion ponctuelle des hardes ou celle, parfois lointaine, de certains mâles (cf. P1-II.2.1, p.33) peut entraîner le transport de l'agent pathogène hors de son aire de répartition. Par ailleurs, la destruction des animaux immunisés (les adultes) et le recrutement d'individus sensibles (les jeunes), dus au turn-over lié à la chasse, favorisera la circulation des pathogènes (cf. P1-II.2.4, p.35).

La structure des contacts interindividuels mais aussi interspécifiques, domestique-sauvage, déterminent l'exposition au risque d'infection (Richomme *et al.*, 2006). Grace aux outils d'épidémiologie moléculaire, nous avons pu montrer que sanglier et animaux d'élevage étaient associés dans le cycle épidémiologique de la tuberculose en Corse (cf. IV.2, p.149). Pour aller plus loin dans l'évaluation du rôle de chaque espèce et du risque zoonotique, la modélisation mathématique de la dynamique, spécifique et interspécifique, de l'infection à l'échelle des groupes sociaux serait à envisager. Ces outils épidémiologiques sont complexes mais s'avèrent particulièrement utiles pour proposer des mesures appropriées de gestion des populations (Zanella, 2007) et prévenir la survenue de zoonoses (Sauvage and Pontier, 2005). Dans le cas de la tuberculose en forêt de Brotonne, ce type de travaux (modèle déterministe) a notamment permis de montrer que, dans la zone étudiée, seul l'abattage total des cerfs de la zone associé au ramassage exhaustif de viscères permettrait d'obtenir une disparition de l'infection (Zanella, 2007).

I.3. Estimation de l'exposition

L'estimation de l'exposition des populations humaines aux zoonoses transmises par le sanglier repose notamment sur la connaissance de l'incidence et l'importance des modalités d'exposition aux dangers de la population humaine étudiée. Bien que hors du champ de notre travail de thèse, nous proposons ici quelques éléments de discussion concernant ces deux aspects qui demeurent mal connus dans notre système d'étude.

L'incidence des maladies zoonotiques étudiées est difficile à estimer du fait de la symptomatologie fruste ou non pathognomonique qu'elles entraînent (cf. P1-II.3.1, p.38). A l'exception de la toxoplasmose congénitale qui fait l'objet d'un suivi périnatal à l'échelle nationale, seuls les cas nécessitant consultation, voire hospitalisation, sont rapportés auprès des centres nationaux de référence.

Concernant les modalités d'exposition, les voies et modes de transmission sont relativement bien connues en théorie que ce soit pour la trichinellose, la toxoplasmose ou la tuberculose (cf. P1-II.3.2, p.42). En revanche, en pratique, l'estimation quantitative de l'exposition au risque est impossible par manque de connaissances chiffrées sur les modes de conservation et de consommation, les pratiques culinaires ou encore concernant les pratiques au moment de la découpe des carcasses. En effet de nombreuses questions demeurent sans réponse : quelle proportion de personnes chargées de la découpe porte des gants, se lave les mains sur le lieu de dépeçage ? Quelle proportion de viande de gibier est consommée par le chasseur, donnée, vendue ? Quelle proportion de viande est congelée avant consommation ? A quelle température ? Quelles sont les quantités consommées, par tranche d'âge ? Quelles modalités de cuisson sont employées et en quelle proportion ? Une enquête auprès des chasseurs et des consommateurs de viande de gibier permettrait dans une certaine mesure d'éclairer ces questions. La conduite d'une telle enquête a été envisagée³⁴ au cours de notre étude mais est restée sans suite faute de stagiaire qualifié pour mener le projet.

En plus de ces données sur l'exposition, des informations supplémentaires sur les facteurs de risque seraient nécessaires et en particulier sur la relation dose-réponse : concernant la toxoplasmose par exemple, il faudrait savoir si le risque est plus élevé par contact avec les oocystes (e.g. contact avec le sol pendant la chasse) ou avec les bradyzoïtes (e.g. contact avec la viande contaminée pendant la découpe).

³⁴ Proposition d'un stage de Master, sous la direction de François Casabianca du LRDE de l'INRA de Corte

Pour pouvoir évaluer quantitativement le risque zoonotique lié aux sangliers en Corse, de nombreuses informations manquent encore, que ce soit pour caractériser les dangers dans les populations de sanglier ou estimer l'exposition au risque de la population de chasseurs corses et de consommateurs de viande de sanglier ou produits de charcuterie.

Cependant, les résultats de notre étude constituent une première avancée concernant ces questions en autorisant une évaluation qualitative du risque (Chevassus-au-Louis, 2002) vis-à-vis de deux des trois dangers étudiés :

- le risque de toxoplasmose est fort sur l'ensemble de l'île. Le parasite a été en effet mis en évidence grâce à l'isolement et au typage de souches de *Toxoplasma gondii* de type II dans plusieurs régions, et l'analyse sérologique confirme l'exposition forte des sangliers sur l'ensemble du territoire.

- le risque lié à *Mycobacterium bovis* est réel, le bacille étant identifié comme présent dans les populations de sangliers de quatre micro-régions. Compte-tenu de la gravité de l'infection et de la connaissance de réservoirs sauvages dans d'autres régions, ce risque pourrait même être considéré comme majeur à notre sens.

Concernant la trichinellose, l'isolement du parasite, détecté pour la première fois sur l'île en 2004, n'a pas été réitéré et l'interprétation des résultats sérologiques demeure délicate. Aussi l'existence actuelle d'un risque zoonotique de trichinellose n'est pas démontrée, mais ne peut pas non plus être infirmée, la prévalence de trichinellose chez les suidés sauvages ne pouvant pas être estimée tant que les questions méthodologiques liées aux tests ne sont pas résolues.

A l'issue de ces premiers travaux, qui ouvrent des perspectives de travaux futurs, des pistes de réflexion concernant la gestion de ce risque zoonotique en Corse peuvent donc être dégagées et font l'objet du chapitre suivant.

II. Gestion et prévention du risque zoonotique

La question de la gestion du risque de maladies associées à la faune sauvage et affectant l'Homme est généralement abordée de manière différente selon qu'elle est envisagée par les autorités zoosanitaires, les gestionnaires de la faune sauvage, les chasseurs ou les éleveurs, du fait notamment des sensibilités et intérêts parfois divergents des uns et des autres (Bengis *et al.*, 2002). A la lumière des activités que nous avons menées dans le cadre du programme BioScope, les réflexions partagées ci-dessous visent à fournir, dans le contexte d'étude, des pistes pour réduire la circulation dans la faune sauvage des agents zoonotiques et l'exposition de l'Homme au risque de maladies à caractère zoonotique en Corse.

II.1. Lien faune domestique et faune sauvage

Le premier élément à souligner est l'importance d'une gestion simultanée des maladies dans les compartiments domestique et sauvage : compte tenu des interactions très fortes en Corse entre ces deux compartiments, le risque de transmission interspécifique domestique-sauvage des agents pathogènes est très fort, et la gestion des zoonoses dans la faune sauvage doit être concomitante de mesures de lutte et de prévention en élevage et vice-versa.

Aussi, la détection en abattoir des zoonoses chez les porcs, bovins, caprins et ovins est primordiale pour limiter le risque lié aux animaux d'élevage mais aussi lié aux populations sauvages : en cas de foyer domestique localisé, les acteurs locaux de la chasse peuvent en effet être alertés et les mesures de prévention et/ou de lutte orientées, comme ce fût le cas en 2004 lors du foyer porcin de trichinellose. A l'inverse une meilleure connaissance des maladies circulant chez le sanglier permet d'orienter les mesures de prévention en élevage (Hars *et al.*, 2003) ; la gestion des maladies chez les animaux sauvages profitant aux animaux domestiques et vice et versa.

Dans notre dispositif de surveillance, initialement dédié au suivi de la trichinellose dans la faune sauvage, nous avons intégré à notre démarche les acteurs du développement de l'élevage porcin (associations d'éleveurs, FRGDS) dans le but de leur exposer cette réalité et de tenter de décloisonner les points de vue en incitant les acteurs de la chasse et de l'élevage à considérer le risque zoonotique de manière globale. La gestion sanitaire des élevages en Corse fait l'objet de nombreux efforts d'amélioration de la part notamment des services de l'Etat et

de la Collectivité territoriale de Corse³⁵, et bénéficie de subventions régulières (e.g. plan exceptionnel d'investissement pour notamment la construction d'abattoirs, cf. P1-III.4, p.68) ; plan de relance de l'agriculture corse³⁶) et d'initiatives dynamiques de la part de la FRGDS ou des associations d'éleveurs. Toutefois de nombreux autres efforts sont encore à produire pour qu'une gestion sanitaire de qualité soit effective dans l'ensemble des élevages, et que la traçabilité et l'abattage des animaux sous contrôle sanitaire soient généralisés. Concernant spécifiquement la tuberculose, une des difficultés à surmonter demeure la prophylaxie en élevage (respect des bonnes pratiques d'application du test d'intradermo-tuberculation).

Les mesures de gestion de certains foyers impliquant faune sauvage et animaux d'élevage préconisent l'interruption des contacts directs entre ces animaux par l'amélioration de la séparation physique par des clôtures (Wobeser, 2002; Hars *et al.*, 2003). Compte tenu du système d'élevage en libre parcours, la mise en application de telles mesures serait illusoire sur l'île. En revanche, la transmission indirecte des agents pathogènes pourrait être mieux contrôlée par la gestion des carcasses.

II.2. Contrôle et gestion des carcasses

La gestion des animaux morts et des carcasses et/ou viscères de gibier ou d'animaux de production est une des clés pour interrompre la dissémination de maladies et l'entretien de réservoir (Wobeser, 2002). La relation étroite entre les pratiques de chasse (rejets des carcasses dans l'environnement) et la prévalence de trichinellose est bien documentée (Perez-Martin *et al.*, 2000; Pozio *et al.*, 2001a). Dans le New Hampshire aux Etats-Unis, après l'introduction de pratique d'incinération des déchets d'abattage, la prévalence de *Trichinella spiralis* chez les sangliers d'une réserve de gibier a été réduit de 76 à 3,6% (Worley *et al.*, 1994). Des mesures de gestion des carcasses et viscères sont aussi préconisées pour l'interruption de la transmission de la tuberculose dans les foyers à prévalence élevée (Hars *et al.*, 2003).

Pour limiter la transmission et l'émergence de pathologies, l'abandon des déchets de chasse dans l'environnement, comme pratiquée actuellement le plus souvent en Corse, devrait donc être proscrit au profit de l'enfouissement ou de la collecte des déchets. Etant donné la dureté du sol sur l'île, l'enfouissement, avec chaulage, ne semble pas toujours aisément

³⁵ Voir la délibération n°06/115 AC de l'Assemblée de Corse approuvant les propositions relatives à l'action collective « Filière d'abattage » : http://www.corse.fr/documents/Assemblee/delib/DELIBERATION_2006_115_AC.pdf

³⁶ Voir la délibération n°06/O1/063 de l'Assemblée de Corse concernant la convention d'application de plan de relance de l'agriculture corse : http://www.camillederoccaserra.com/docs/plan_de_relance_de_l_agriculture.pdf

applicable selon les régions. Nous avons toutefois rencontré une équipe de battue dans la région de Sartène, très bien organisée par ailleurs, qui avait mis en place cette pratique. Le brûlage permettrait de décontaminer correctement les déchets de découpe, mais est à proposer avec prudence dans une région où les incendies de maquis et de forêt sont déjà problématiques. La collecte des produits de découpe, telle que mise en place dans certaines autres régions de France, comme les Vosges par la Fédération des Chasseurs du Bas-Rhin, serait une des solutions les plus intéressantes. En 2003, un rapport national³⁷, présenté par le Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable et celui de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, précisait que « la question des centres de collecte mériterait de faire l'objet d'une étude approfondie sur leurs conditions d'implantation, leur équipement, leur fonctionnement et leur financement ». La prise en charge financière est probablement une des contraintes majeures à la mise place de telles structures : dans les Vosges, le coût du dispositif de collecte et de destruction des viscères s'élève à plusieurs dizaines de milliers d'euros par an (Rossi, 2005). Cependant une telle réflexion sur la collecte des déchets de chasse en Corse, menée conjointement par les fédérations de chasse et les services de l'Etat, devrait effectivement être envisagée sérieusement comme l'une des mesures essentielles à la gestion de la transmission des agents pathogènes.

Notons que l'organisation de placettes d'agrainage du gibier favorise aussi la transmission directe et indirecte d'agents pathogènes, par concentration d'animaux sur une même zone (Schmitt *et al.*, 1997). D'après nos observations, cette pratique est peu répandue sur l'île, mais une certaine vigilance doit être maintenue car si elle se développait, elle risquerait d'entraîner localement l'entretien d'agents pathogènes capables de survivre dans le sol, tel que le bacille de tuberculose.

II.3. La prévention par l'information

Cette étape de la prévention, à l'interface entre gestion et communication du risque, consiste à sensibiliser et informer les populations exposées aux dangers sur les mesures permettant l'évitement de l'infection et sa propagation. Compte tenu de leurs prérogatives et missions, cette étape est sous la responsabilité des autorités sanitaires (DDSV, DDASS). Toutefois, la circulation de l'information entre les structures et vers les populations à risque

³⁷ Rapport N° C 2003 T 067, présenté par Bourcet J., Bacque P., de Nonancourt P. et C. Sapor : Evaluation des risques liés à l'augmentation des densités des sangliers sauvages en France.

peut être facilitée lorsqu'un dispositif tel que celui mis en place dans notre étude existe (cf. Fig. 10, p.85).

Pour ce qui concerne la problématique développée ici, les populations à risque sont les chasseurs, exposés au risque par manipulation des carcasses, et les consommateurs de viande de sanglier, qui peuvent être les chasseurs eux-mêmes, leurs proches, voire les restaurateurs et les clients des restaurants (cf. P1-III.3, consommation de la viande de sanglier en Corse, p.71).

II.3.1. La prévention auprès des consommateurs

La première des mesures de prévention à adopter demeure l'encouragement des méthodes de cuisson adéquates de la viande de gibier, garantissant l'élimination de très nombreux dangers zoonotiques (Macpherson, 2005), y compris ceux liés aux trois pathogènes étudiés ici. A l'occasion de toutes les réunions, des courriers d'information aux chasseurs ou des interventions médiatisées, nous rappelions qu'une cuisson permettant une viande « grise à cœur » était le seul moyen infaillible pour prévenir le risque de trichinellose. En l'absence de résultat concernant la survie des larves de *T. britovi* à la congélation domestique et au séchage-salage traditionnel corse, nous précisions en outre que, si ces pratiques semblent permettre de désactiver les larves de *T. spiralis* dans certaines conditions (Medina-Lerena *et al.*, 2009), nous ne pouvions garantir cet effet concernant la souche découverte en Corse en 2004. Concernant *T. gondii*, la congélation permet d'éliminer le danger mais le salage-séchage n'inactive le parasite que de manière incertaine (cf. P1-II.3.2.2, p.51).

Une des difficultés, que nous avons nous-mêmes pu éprouver, demeure la communication autour du risque. Cette opération est en effet une opération délicate car il faut pouvoir sensibiliser les consommateurs, pour prévenir l'émergence de foyer, sans pour autant déclencher une psychose. Cette opération est d'autant plus délicate lorsqu'elle concerne une maladie dont le risque est présent mais à bas bruit, comme cela semble être le cas pour la trichinellose en Corse. En effet, si scientifiquement le risque est considéré comme réel, la perception du risque par la société est plus grossière et subjective (Chevassus-au-Louis, 2002). L'avis sécuritaire, basé sur les résultats scientifiques, peut être un facteur de déclenchement ou d'amplification des crises (Godard, 2001). Aussi, dans tous les cas, ces opérations de communication doivent être menées en étroite collaboration et en accord avec les autorités sanitaires locales, qui seront toujours les premières interpellées sur le risque et missionnées pour la gestion des foyers et des crises.

Des outils de communication, conçus avec soin et utilisant un langage et un contenu adaptés au public visé, peuvent alors s'avérer très utiles. Ces outils peuvent être développés localement (e.g. plaquette d'information sur l'hydatidose conçue par les services vétérinaires de Corse à destination des éleveurs) ou à plus grande échelle (e.g. élaboration d'une affiche à destination du grand public en projet au LNR des *Trichinella*).

Outre les moyens de communication visant le grand public tels que la presse quotidienne ou la radio régionale, l'information concernant le risque zoonotique peut être relayée par les professionnels de la santé humaine mais aussi animale comme les vétérinaires (Sleeman, 2006). Au Canada, 44% des vétérinaires installés discutent avec leurs clients autour du risque zoonotique lié aux parasites internes de leur animal de compagnie (Stull *et al.*, 2007). Il est difficile de prédire quel serait le résultat d'une enquête semblable menée dans notre aire d'étude. Toutefois, notre expérience en Corse nous a permis de constater que le rôle possible des vétérinaires n'était pas à négliger, en particulier le rôle de ceux qui drainent une clientèle de chasseurs, premiers consommateurs de viande de gibier. La mobilisation des confrères, facilitée par l'implication du Groupement technique vétérinaire régional de Corse en tant que partenaire du réseau d'épidémiosurveillance, nous a notamment permis d'afficher dans les salles d'attente de certaines cliniques vétérinaires une information à destination des chasseurs.

II.3.2. La prévention auprès des chasseurs

La formation et l'information des chasseurs de sanglier ont pour objectifs leur responsabilisation, en tant que producteurs primaires, vis-à-vis de la denrée qu'ils cèdent, la sensibilisation des équipes de battue aux pratiques d'hygiène des activités de chasse (reconnaissance de lésions, bonnes pratiques de découpe) et aux mesures de prévention de la transmission des agents pathogènes (gestion des carcasses notamment).

L'une des limites à l'efficacité des opérations de prévention auprès des chasseurs est le caractère ludique de la chasse : nous avons pu vérifier que cette activité de loisir supporte parfois mal les contraintes. Dans certaines situations pourtant, l'obligation de prélèvement par les chasseurs est posée par arrêté préfectoral, comme dans le cas du plan de surveillance du foyer de peste porcine classique du sanglier dans les départements de la Moselle et du Bas-Rhin (Hars *et al.*, 2000). Compte tenu de la particularité de notre aire d'étude parfois peu encline à l'application de mesures imposées par l'administration (Filippova, 2008), il est à craindre que la mise en application de telles mesures sur l'île ne soit promise à l'échec. Nous avons pu par ailleurs constater que la réceptivité des chasseurs à l'information et à la demande de prélèvement, ainsi que l'équipement des lieux de découpe, était variable, rendant difficile

la mission de sensibilisation et l'opérationnalité des mesures. Ceci étant d'ailleurs probablement moins lié à l'aire d'étude qu'à l'activité de chasse en elle-même.

L'essentiel du travail de prévention sanitaire et de gestion des zoonoses du sanglier sur les lieux de chasse repose sur le fait de réussir à convaincre les équipes de battue de leur intérêt propre à la mise en œuvre des mesures préconisées et à la nécessité commune de protection de la santé publique. Nous reviendrons sur ce point dans le chapitre suivant (cf. P3-III.1, p.179). Du fait de l'organisation des battues, le fait de contacter en premier lieu le chef de battue ou le responsable de la découpe facilite cette opération, car ils se considèrent davantage impliqués de par leur rôle ou mission. C'est du moins ce qu'il nous semble avoir remarqué. Toutefois, il faut rester lucide sur l'efficacité et le rendement de la démarche : au cours des deux campagnes de prélèvements organisées dans le cadre du programme d'épidémiologie, nous avons démarché en direct près de 60 équipes de battue (discussion avec le chef de battue ou intervention sur le lieu de chasse au moment de la découpe) : alors que la participation semblait acquise après notre intervention, seules 30 équipes ont effectivement réalisé des prélèvements, et 10 d'entre-elles se sont contentées d'un ou deux prélèvements.

Dans tous les cas, le fait de s'appuyer sur les compétences des fédérations de chasse est essentiel pour relayer le discours, mieux perçu lorsqu'il vient des pairs. Il permet aussi de bénéficier d'un accès aux outils de communication interne à ces fédérations (bulletin de chasse, lettre du président). L'implication des services vétérinaires, pour asseoir l'importance des mesures, et l'implication des vétérinaires praticiens, pour relayer l'information, comme nous avons pu le voir ci-dessus, est par ailleurs nécessaire, ne serait-ce que pour homogénéiser et généraliser le discours à l'ensemble du territoire concerné.

Faisant suite à une réflexion sur l'évaluation du risque zoonotique lié au gibier en Corse, la discussion autour des mesures de gestion et de prévention du risque que nous venons de présenter nous a conduit à souligner l'importance de la gestion concomitante du statut sanitaire en élevage et dans la faune sauvage, de la nécessité d'améliorer la maîtrise des déchets de carcasse d'animaux, tant domestiques que sauvages, et de poursuivre le travail d'information des populations à risque, consommateurs et chasseurs.

Le chapitre suivant a pour objectif de proposer, en nous appuyant sur notre expérience, une réflexion sur les actions à mener pour pérenniser le travail d'épidémiologie en Corse et exposer les perspectives envisageables.

III. Suivi épidémiologique des zoonoses du gibier en Corse : quel avenir ?

III.1. Retour sur l'organisation et le fonctionnement du dispositif en Corse

L'évaluation d'un réseau de surveillance épidémiologique est un point clé pour s'assurer de son efficacité et envisager son fonctionnement en continu. Le fait de disposer d'éléments concrets pour identifier les points faibles et les limites du fonctionnement du réseau permet de proposer des mesures d'amélioration. L'évaluation du système peut être externe, réalisée lors d'un audit d'experts (OMS, 2001), ou bien interne. Cette dernière démarche, mise en œuvre par et pour les acteurs du réseau, repose sur l'élaboration d'indicateurs de performance et de diagnostic (Hendrikx and Dufour, 2004). Nous n'avons pas pour ambition, ni prétention, dans ce chapitre de développer une telle évaluation du dispositif d'épidémiosurveillance que nous avons mis en place dans le cadre du programme BioScope. Bien que nécessaire pour envisager une pérennisation effective de ce réseau, le travail très complet de cette analyse dépasserait le champ délimité de cette thèse et devrait en tout état de cause être conduit après appropriation de la méthode d'évaluation et en collaboration avec l'ensemble des partenaires du programme.

Toutefois, compte tenu de l'expérience que nous avons vécue, il nous semble profitable de pouvoir ici partager quelques réflexions et chercher à identifier des points de difficultés à surmonter dans la perspective d'une suite à donner à la surveillance de maladies zoonotiques de la faune sauvage en Corse. Les limites et difficultés liées à cette perspective tiennent premièrement à la structure même du dispositif - réseau pluridisciplinaire d'acteurs chercheurs et non-chercheurs (Calavas, 1998) -, deuxièmement au fait de s'intéresser à la surveillance de la faune sauvage (Morner *et al.*, 2002), et troisièmement au contexte particulier, insulaire, montagnaise et identitaire, de la région d'étude (Filippova, 2008). La discussion autour des deux premiers aspects n'est pas spécifique à notre étude. L'identification des difficultés liées au travail scientifique en réseau fait notamment l'objet d'un référentiel³⁸ de qualité en recherche (AFNOR, 2003). Outre les points identifiés au chapitre P1-II.1, les particularités de la Corse relèvent quant à elles de considérations géographiques (île montagnaise) mais aussi ethnologiques et sociologiques. Ces dernières, bien que très certainement essentielles à la compréhension des améliorations possibles et

³⁸ Fascicule de documentation FD X 50-551 édité par l'Association Française de normalisation (AFNOR) : "Recommandations pour l'organisation et la réalisation d'une activité de recherche en mode projet notamment dans le cadre d'un réseau". L'objet de ce document est de servir de guide pour identifier les points présentant des risques dus notamment à la complexité de l'organisation, depuis la phase préparatoire d'un projet pluridisciplinaire jusqu'à sa clôture. Il insiste sur les aspects liés à l'organisation, sur la traçabilité et la rédaction de documents utiles au pilotage et au suivi du projet.

perspectives envisageables, ne pourront pas être abordées en profondeur ici car dépassant notre champ de compétences personnelles.

La discussion ci-après s'articule autour des différentes étapes du fonctionnement du dispositif présenté au chapitre P2-I.2.

III.1.1. Recueil de données de terrain

Le recueil des données épidémiologiques repose sur la réalisation de prélèvements de qualité, la collecte et l'acheminement des échantillons (cf. Fig. 10, p.85). Nous allons ici discuter ces différentes étapes.

III.1.1.1 Implication des acteurs de terrain dans la réalisation des prélèvements

Dans le cadre d'un réseau d'épidémiosurveillance des maladies du gibier, l'essentiel du recueil des données et de la réalisation des prélèvements passe par les chasseurs. Ces acteurs non scientifiques réalisent ces prélèvements de manière volontaire et dans le cadre d'une activité de loisir. Ceci a plusieurs conséquences. De par leur profil non scientifique, les chasseurs n'ont pas la même représentation du risque que les évaluateurs scientifiques. Aussi le discours de mobilisation doit être adapté pour que les équipes de chasse perçoivent leur intérêt propre tout en adhérant au projet commun de santé publique. Nous avons pu remarquer que cette conscientisation et motivation à participer était particulièrement variable d'une micro-région à une autre, en fonction du degré d'organisation de la chasse localement, de l'implication des chasseurs dans les FDC ou encore d'un antécédent de foyer de maladie.

D'un point de vue qualité des données, la participation « volontaire » dans le cadre d'une activité de loisir implique que ni la fréquence ni le lieu de collecte ne peuvent être imposés aisément. Par ailleurs, les dates de battue ne sont pas fixées selon un calendrier strict ; elles dépendent de la disponibilité des personnes qui participent à la battue, de leurs obligations professionnelles, des conditions météorologiques, etc. En fonction de la motivation des chasseurs, le sanglier abattu ne fait pas systématiquement l'objet d'un prélèvement. Par ailleurs, en fonction de sa formation au prélèvement et de son application, la qualité du prélèvement pourra varier. Il est essentiel d'avoir conscience de ces contraintes pour considérer le plan d'échantillonnage et/ou les questions auxquelles le recueil des données pourra permettre de répondre.

A l'échelle régionale, nous avons pu par ailleurs attester d'une difficulté à mobiliser largement les équipes ainsi que d'un certain « essoufflement des énergies » de ces préleveurs volontaires, au cours des différentes campagnes de chasse mais aussi avant même la mise en

place de notre dispositif, du fait apparemment de mobilisation antérieure (en Haute-Corse antécédents de l'enquête sérologique 2003-2004).

Pour toutes ces raisons, il nous semble donc important de raisonner l'appel à volontaires en fonction des besoins du dispositif, et ne recourir à un appel massif à prélèvements que dans des cas ponctuels, c'est-à-dire par exemple en cas de danger avéré et généralisé.

Pour le recueil de données à l'échelle régionale, en différents points de l'île et en continu, il nous semble en effet plus pertinent d'organiser la collecte de prélèvements impliquant uniquement les équipes de battues que l'on a identifiées comme motivées, fidèles et fiables, que l'on pourrait alors qualifier d'équipes sentinelles. L'identification de ce type d'équipes est probablement une des tâches les plus complexes d'autant que la motivation d'une équipe est souvent gouvernée par son chef de battue, dont l'implication, pour des raisons personnelles, peut être variable dans le temps. Il est donc important de pouvoir se baser sur un listing de participants à des dispositifs passés ou pouvoir bénéficier de l'introduction dans les réseaux de chasse par des initiés. Dans le cas de notre étude, en Haute-Corse une grande proportion des prélèvements effectués dans le Boziu et la Castagniccia est le fruit d'une implication exemplaire d'un chasseur reconnu localement (et par ailleurs agent INRA à Corte) et de l'activation de son réseau. En Corse-du-Sud, l'implication tout aussi exemplaire de deux des administrateurs et des deux techniciens de la Fédération des chasseurs (FDC) a permis de recueillir la majeure partie des prélèvements sur 4 zones du département.

Ce dernier point nous permet d'insister sur le rôle des Fédérations des chasseurs et le fait de s'appuyer sur leurs compétences. L'emprise sur le territoire corse de ces institutions n'est certes pas généralisée : leur caractère politique implique que seule une partie des chasseurs administrés est en accord avec les lignes directrices de la fédération, ce qui peut être un frein à la perception positive à l'échelle du territoire insulaire d'un projet porté en partenariat avec ces fédérations. De plus, du fait des personnalités des présidents, salariés et administrateurs, mais aussi de la mise en place hâtive du réseau, nous avons pu constater que l'adhésion au projet de chacune des deux fédérations n'a pas toujours été acquise d'emblée et la collaboration d'une efficacité nuancée. Pour autant, il est fondamental que toute continuité donnée au travail d'épidémiologie envisage de consolider et soigner les relations avec chacune des deux FDC, dans le respect de l'organisation et des possibilités d'action de chacune.

L'implication des lieutenants de louveterie est aussi précieuse. Ces agents de l'Etat bénévoles, nommés par le préfet sur proposition du DDAF et sur avis du président de la FDC, ont obligation d'être des chasseurs modèles et de promouvoir l'éthique de la chasse, ce qui explique qu'ils ont à cœur le plus souvent de contribuer à l'aboutissement de projet concernant la santé publique. Compte tenu de leur statut ils sont d'ailleurs le plus souvent chefs de battue. Leur mission principale est de réguler les nuisibles, plus particulièrement les sangliers, et d'organiser les battues administratives sur décision préfectorale. Une de leurs prérogatives est aussi le piégeage des renards, ce qui explique qu'ils sont généralement impliqués dans les études concernant cette espèce. En Corse, ces agents sont d'ailleurs les seuls titulaires de certificats de piégeage du renard, cette pratique, bien que largement répandue, étant peu officialisée sur l'île (braconnage fréquent). La Corse compte 21 lieutenants de louveterie, chacun d'entre eux étant missionné sur une circonscription. Leur implication dans le réseau n'a pas été uniforme mais le soutien et la participation de 10 d'entre eux se sont avérés efficaces, dans l'échantillonnage de renards d'une part et dans la réalisation de prélèvements sur leur propre battue d'autre part. Notons qu'aucun des prélèvements de notre étude n'a été réalisé dans le cadre de battue administrative.

Il nous faut enfin ici souligner que, dans le cas de notre dispositif, l'implication des autres acteurs de la gestion de la faune sauvage que sont les agents de l'ONCFS a été inégale d'un département à l'autre. Les moyens humains réduits dont disposent les sections départementales expliquent pour partie l'implication difficile de leurs agents. Ceux qui se sont le plus impliqués étaient eux-mêmes chasseurs, et corses, et c'est visiblement à titre personnel qu'ils avaient à cœur de servir une mission de santé publique dans leur région.

III.1.1.2. Formation au prélèvement et à la détection de lésions

La qualité des prélèvements et du recueil de données de surveillance implique de pouvoir former les acteurs de terrain à la reconnaissance des lésions et à la connaissance de la nature des prélèvements à effectuer en cas de suspicion de maladie (Dufour et Henrikx, 2004).

Dans le cadre du dispositif organisé en 2006-2008, nous avons expliqué le prélèvement à effectuer lors de réunions de lancement, à l'aide de fiches d'explication distribuées via les FDC et par courrier, ou bien encore directement sur les battues. Ces dernières démonstrations demandent un lourd investissement en temps mais sont à notre sens les plus profitables : nous avons en effet pu remarquer que, même lorsque la fiche d'explication avait été reçue, la reconnaissance du muscle à prélever était loin d'être une

évidence pour la plupart des chasseurs. Ce qui peut signifier que la fiche n'avait pas été lue, ou bien qu'elle n'avait pas été comprise et que ce support était mal adapté à l'explication. Dans le cas de la tuberculose, dans la zone où nous avons-nous-même détecté deux sangliers suspects, les lésions liées à la maladie étaient inconnues des chasseurs présents, et les mesures de précaution totalement ignorées (manipulation et gestion des carcasses). Une information sur la détection de cette maladie devrait donc être envisagée sérieusement.

Dans le cas d'une poursuite des travaux d'épidémiologie, une analyse sur le support d'explication le mieux adapté pourrait être complétée et la création de nouveaux supports envisagée. L'apport de l'outil vidéo³⁹ est notamment une piste intéressante.

La Fédération nationale des chasseurs propose une formation générale à l'inspection sanitaire des carcasses à destination des techniciens de FDC notamment. Si la difficulté ensuite semble être le transfert des connaissances vers les équipes de battue, notons que cette formation des techniciens de FDC est en cours en Corse-du-Sud. Les DDSV des deux départements proposent par ailleurs la mise à disposition de leur infrastructure et des compétences des techniciens d'abattoir en cas d'animaux suspects. Il semble qu'une des limites à l'utilisation de ces services soit la difficulté d'acheminer le cadavre à l'abattoir, pouvant être distant du lieu de chasse de plusieurs dizaines de kilomètres par des routes de montagne. Dans la région de Sartène où la tuberculose bovine est présente, ce dispositif pourrait toutefois être précieux pour la détection et la gestion des sangliers tuberculeux, sous réserve que les chasseurs jouent le jeu localement.

III.1.1.3. Collecte et acheminement des prélèvements vers les laboratoires d'analyses

Compte tenu du découpage en vallées et de la distance parfois conséquente entre certains lieux de chasse et les LDAV, implantés à Bastia et Ajaccio, la mise en place de relais de collecte de prélèvements est indispensable en Corse. L'expérience de notre dispositif montre que le fait d'adapter ces relais au contexte local de la micro-région facilite la démarche : dans certaines parties du territoire, le relais via les abattoirs (Ponte-Leccia, Sartène, Porto-Vecchio) ou cliniques vétérinaires fonctionne lorsqu'il est associé à la tournée de collecte des prélèvements de prophylaxie bovine organisée par le LDAV2B (dans la région de Calvi ou de la plaine orientale) ; dans d'autres parties de l'île, l'acheminement était assuré via les techniciens de la FDC2A ou la coordinatrice du réseau moyennant éventuellement des

³⁹ Un projet de vidéo a été porté par le LRDE INRA dans le cadre de nos travaux. Bien que prometteur, ce projet demanderait à être poursuivi pour que le film soit réellement exploitable sur le terrain.

points relais informels comme des bars (à l’Ile-Rousse, Ponte Novo, Piana, Porto, Vico) ou le domicile de certains chasseurs.

L’idéal serait évidemment de pouvoir dédier une personne à la mission de collecte et d’acheminement, sur l’ensemble du territoire ou bien par département. Cette option a été réfléchiée mais n’a pu être concrétisée faute de moyens financiers (la personne devant être rémunérée) et de personne intéressée (emploi de très courte durée et uniquement le week-end). A défaut de pouvoir implanter une telle tournée de collecte, la cartographie des relais possibles serait à notre sens une des spécificités du dispositif à conserver et compléter si de futures campagnes de prélèvements étaient à organiser.

III.1.2. Analyses de laboratoire

En fonction des maladies surveillées, l’analyse des échantillons peut être réalisée en Corse dans l’un des deux LDAV (e.g. la recherche directe de trichinellose), ou bien doit être effectuée dans d’autres laboratoires, soit des LDAV agréés du continent (e.g. pour la recherche de *M. bovis*) ou des structures spécialisées de type LNR (e.g. isolement de *T. gondii*).

Lorsque l’analyse dans un laboratoire de ce second type doit être envisagée, le caractère insulaire du contexte d’étude est à considérer concernant l’expédition des prélèvements. Cette réflexion peut paraître triviale mais elle nous semble importante à souligner car pouvant contraindre fortement certaines investigations qui demanderaient des délais très courts. Lors des transferts, en fin de campagne, des prélèvements des LDAV vers le laboratoire BIPAR de l’AFSSA à Maisons-Alfort, où étaient effectuées les analyses sérologiques, nous avons constaté que les prélèvements, expédiés congelés mais acheminés anormalement en plus de 48h, avaient subi une très légère décongélation. Une décongélation plus marquée aurait pu être préjudiciable à la poursuite du protocole d’analyse sérologique. Par ailleurs, toute expédition de prélèvement a un coût non négligeable, qui doit alors être répercuté sur le budget global de la surveillance.

Le travail des LDAV, prestataires de service, a lui aussi un coût qui doit être préalablement budgétisé et assumé. Dans le cas de la trichinellose, les services vétérinaires ont pris en charge le coût des analyses de digestion artificielle (9 000€, sur la base de 2000 prélèvements et 90 € l’analyse par pool de 20). Dans le cas de la tuberculose, les analyses ont aussi été financées par les DDSV du fait du caractère ponctuel de ces demandes d’analyses.

Dans le cadre d'investigations plus larges sur cette maladie, d'autres sources de financement seraient à rechercher.

En Corse, la collaboration avec les laboratoires d'analyse, formalisée par le biais d'une convention tripartite LDAV-DDSV-INRA, a été mise en place sans difficulté majeure et nous avons rencontré une motivation forte des deux laboratoires à prendre part au projet. Dans la perspective d'une continuité des travaux, une harmonisation des comptes-rendus d'analyse serait toutefois à réfléchir pour faciliter la gestion des données. Le transfert des données dans la base informatique, directement par saisie en ligne, serait idéal. Un premier travail de conceptualisation de cet outil a été réalisé dans le cadre de notre étude (Madary, 2007). Le développement opérationnel puis l'appropriation de l'outil par les agents de laboratoire seraient maintenant à mettre en œuvre.

Enfin, comme nous avons pu le voir dans le chapitre I.2.1 de cette discussion générale, une réflexion sur les outils de diagnostic des maladies dans la faune sauvage doit être poursuivie pour permettre ensuite une analyse épidémiologique des données affranchie des difficultés méthodologiques. L'applicabilité des procédés diagnostiques à la faune sauvage a fait d'ailleurs l'objet d'un travail de synthèse par le groupe de travail des maladies de la faune sauvage de l'OIE (Keller, 2008), qui suggère qu'un chapitre soit ajouté au *manuel des standards* de l'OIE permettant d'éviter une mauvaise utilisation des tests ou une mauvaise interprétation, lors de leur utilisation sur la faune sauvage.

III.1.3. Analyse des données et réseau scientifique

L'analyse épidémiologique des données de suivi des maladies de la faune sauvage requiert la maîtrise de connaissances théoriques et méthodologiques dans différentes disciplines des sciences de la vie : biologie et sciences vétérinaires (microbiologie, parasitologie, virologie, etc.), épidémiologie quantitative et analytique, écologie (fonctionnement des populations et interactions hôtes-parasites) et biomathématiques (analyse statistique des données). Dans le cadre d'un travail d'épidémiosurveillance, l'analyse scientifique implique par ailleurs la prise en compte de données sociologiques qui requièrent l'apport des sciences humaines.

Ce travail scientifique est donc par essence pluridisciplinaire et complexe (Field, 2008). Chaque discipline intègre le réseau de travail avec ses points de vue et formes de connaissance, ce qui peut occasionner une difficulté de dialogues et de compréhension mutuelle (Calavas, 1998). De plus, la réflexion autour d'un objectif commun demande à

chaque discipline de suspendre momentanément son développement propre, ce qui peut aller à l'encontre de l'intérêt scientifique personnel immédiat. Au-delà de l'implication individuelle des acteurs de chacune des disciplines, il faut parfois par ailleurs composer avec les logiques institutionnelles des tutelles de ces disciplines.

Ainsi, dans le but d'améliorer la collaboration multidisciplinaire, il est utile de développer au sein du programme général des modules de réflexion spécifique tenant compte de l'intérêt scientifique des chercheurs dans leur champ d'action et de leurs contraintes institutionnelles (Calavas, 1998). Par ailleurs, les rôles du coordinateur et du comité de pilotage sont essentiels pour organiser les travaux dans la poursuite d'un objectif commun (AFNOR, 2003).

III.1.4. La communication et les interactions intra-réseau

La communication est un des facteurs limitants à la pérennisation des réseaux d'épidémiosurveillance (Hendriks, 2000). Quels que soient les niveaux de communication et d'interactions intra-réseau, la démarche de travail en partenariat implique une adhésion au projet collectif, une compréhension commune et l'établissement d'une relation de confiance entre les agents de l'état, les chercheurs et les acteurs de terrain pour un échange transparent des informations (Dubuc, 2004). Ces prérequis ne sont pas toujours remplis et la mise en place d'interactions intra-réseau harmonieuses peut parfois relever du défi.

III.1.4.1. Confiance et communication entre acteurs

- Confiance et diversité d'acteurs

Le développement d'un partenariat plus efficace entre les services vétérinaires et les organismes en santé animale, y compris de recherche, est un des enjeux de perspective pour prévenir l'émergence de maladies zoonotiques, en particulier liées à la faune sauvage (King *et al.*, 2004). Le développement d'un tel partenariat pérenne est rendu notamment compliqué à l'échelle départementale ou régionale du fait du turn-over des responsables de ces structures, obligeant un perpétuel ré-établissement des relations. Le cas des maladies réglementées est par ailleurs sensible : d'un côté la recherche sur ces maladies est nécessaire pour prévenir leur émergence et de l'autre les services vétérinaires sont les gestionnaires et responsables de l'application de la réglementation de ces maladies. Ces derniers peuvent alors craindre que certaines investigations ne mettent en évidence les pratiques non réglementaires, comme ce fut le cas lors de la mise en place du programme BioScope en Corse : l'une des pistes de recherche était de rechercher la trichinellose dans des élevages de porcs abattus hors

structure agréée, ce qui aurait posé la question de la gestion de ces élevages par la DDSV. Les rapports institutionnels sont dans ce cas aussi à prendre en considération dans la démarche de communication et l'entente entre les tutelles de la recherche et de la gestion de la santé animale, un préalable nécessaire au bon déroulement des projets.

De la même manière, la confiance entre chasseurs et agents de l'Etat, ou chercheurs en santé animale, n'est pas acquise d'emblée et est même parfois difficile à instaurer : les premiers peuvent être fortement réticents à déclarer un animal suspect aux seconds de peur de se voir imposer des mesures de lutte les contraignant dans leur activité de chasse. Dans notre aire d'étude, cette raison nous a clairement été formulée.

- Actions de communication

Plusieurs actions de communication peuvent être mise en place pour renforcer la confiance et permettre le bon fonctionnement des réseaux : la formation des acteurs et intervenants de terrain et le retour d'information (Hendriks, 2000). Ces actions constituent la base des concepts de la surveillance des maladies et de l'épidémiologie dites *participatives* (*participatory disease surveillance* et *participatory epidemiology*) (Mariner and Paskin, 2000; Jost *et al.*, 2007).

La formation des acteurs de terrain, ici les chasseurs, vise à expliquer les enjeux et leur place, leur importance dans le système régional d'épidémiosurveillance. Ces formations ont été organisées sous forme de réunions au cours desquelles ont été apportées des connaissances sur les maladies surveillées, le rôle du chasseur dans le réseau et les conséquences à la découverte des cas positifs. Dans l'idéal, pour sensibiliser un maximum d'acteurs de terrain, les réunions doivent être localisées et donc multiples, ce qui implique un temps conséquent à consacrer à cette démarche.

La formation spécifique des gardes de l'ONCFS et techniciens de FDC à la communication avec les chasseurs sur les sujets visés par l'épidémiosurveillance n'a pas été organisée dans le cadre de notre dispositif. Ces acteurs ont reçu les informations concernant les maladies surveillées au cours des réunions collectives de lancement de programme. Dans la perspective d'une prochaine action, la formation spécifique de ces intervenants devrait être envisagée en amont.

Le retour de l'information doit être pensé au niveau régional mais adapté aux acteurs visés. Gage de transparence et de respect de l'acteur, ce retour d'information au niveau du

terrain notamment permet de maintenir la motivation à moyen et long termes. Une des manières intéressantes de restituer l'information est l'édition d'un bulletin épidémiologique destiné aux différents partenaires du réseau. Concernant les chasseurs, en lien avec la Fédération régionale des chasseurs de Corse, nous avons pu intégrer une information au bulletin trimestriel des chasseurs. Concernant les autres partenaires nous utilisons l'envoi d'un mail collectif pour effectuer le retour des résultats des prélèvements en fin de campagne de chasse.

- Outils de communications

Tout au long du fonctionnement du dispositif, nous avons eu recours à différents modes et outils de communication : contacts téléphoniques, rencontres, lors de réunions ou bien sur les lieux de chasse, courriers postaux, e-mails, rédaction d'article de presse, intervention radiophonique. En lien avec le CIRAD et le coordinateur du réseau Pigtrop⁴⁰, nous avons par ailleurs réfléchi à la mise en place d'un site d'information accessible en ligne par les partenaires du réseau, dans le but de faciliter la communication intra-réseau. Dans notre première idée, ce site était destiné aux chasseurs et aux acteurs institutionnels. Toutefois, un sondage effectué auprès de chasseurs qui avaient participé à la première campagne de surveillance a mis en évidence que très peu d'entre-eux avaient un accès à un ordinateur connecté à internet. Finalement, par manque de temps et de personne ressource, le développement et la mise en place de ce portail d'information n'a pas pu aboutir, mais pourrait être une des perspectives de réalisation dans le cadre de la poursuite du programme BioScope pour faciliter la communication avec les acteurs des institutions, organisations ou associations, mais aussi améliorer les relations intra-réseau.

III.1.4.2. Interactions intra-réseau

Dans le but de mieux appréhender les interactions au sein du dispositif mis en place, nous avons engagé en collaboration avec le CIRAD un travail visant à décortiquer précisément, à l'aide d'outils de représentation et de modélisation des systèmes multi-agents, les rôles des acteurs et leurs relations. Les diagrammes en langage de modélisation unifié (UML, Unified Modeling Language) permettent notamment de formaliser par des représentations graphiques les relations que les acteurs établissent entre eux et analyser la nature de ces échanges. Le logiciel de simulation multi-agents Cormas⁴¹, développé par le

⁴⁰ Réseau scientifique international sur l'élevage porcin dans les pays tropicaux : http://pigtrop.cirad.fr/fr/le_reseau_pigtrop

⁴¹ <http://cormas.cirad.fr/index.htm>

CIRAD, permet quant à lui de modéliser le comportement d'agents dans un système et de prévoir les répercussions d'une action engagée dans ce système. Confié à un stagiaire de Master en sciences biologiques, ce travail n'a malheureusement pas permis d'aboutir à des résultats exploitables, en raison notamment des difficultés de l'étudiant à s'approprier et conceptualiser la problématique. Repris par des chercheurs en sciences humaines et sociales, cette analyse pourrait être à notre sens réellement profitable pour éclairer le jeu des acteurs et mieux cerner les limites et les perspectives du dispositif mis en place en Corse.

III.2. Perspectives

L'ensemble du regard que nous venons de porter sur l'évaluation du risque zoonotique et le fonctionnement du dispositif nous permettent de discuter maintenant des perspectives envisageables concernant le suivi épidémiologique des maladies zoonotiques liées au gibier en Corse.

III.2.1. De la nécessité d'une coordination du dispositif

Comme nous avons pu le décrire précédemment, le temps consacré à la communication, à la gestion des relations est une des clés du succès de mobilisation des acteurs, de leur adhésion durable au projet et du bon fonctionnement de ce projet en mode réseau. Pour être menées à bien, en plus de moyens financiers spécifiques et d'un savoir-faire technique, ces actions nécessitent « la désignation pérenne d'un chargé de communication dans le réseau » (Hendrikx, 2000). Par ailleurs la présence d'un coordinateur est indispensable.

Pour avoir été en charge, successivement ou de manière simultanée, des fonctions de coordinateur, animateur, gestionnaire des données ou chargé de communication du réseau, nous avons pu comprendre combien ces activités sont chronophages et très souvent incompatibles avec une activité de recherche scientifique valorisée comme telle, c'est-à-dire une réflexion méthodologique en vue de l'analyse des données et cette analyse en elle-même.

Pour autant, il nous semble bénéfique que l'ensemble de ces missions soit localement assumé par une seule et même personne, pour qu'un regard d'ensemble soit porté sur le dispositif. Alors identifié comme référent par les acteurs locaux, ce coordinateur pourra poursuivre le travail engagé sous le pilotage du comité d'experts, locaux et nationaux, en lien étroit avec les institutions et organisations locales.

Une des perspectives opérationnelles concernant la poursuite de travaux en Corse est donc à notre sens cette réflexion sur la coordination et l'animation du suivi. Depuis notre départ et celui du coordinateur régional des Services Vétérinaires (non-remplacé), nous devons constater que la surveillance des maladies de la faune sauvage en Corse n'est plus coordonnée au niveau régional autrement que, en théorie, par le directeur régional des services vétérinaires. Les prérogatives très nombreuses de cette fonction et la restructuration actuelle des directions départementales des services vétérinaires liée à la révision générale des politiques publiques impliquent que, en pratique, la surveillance des maladies de la faune sauvage ne peut être assurée de manière approfondie et prospective par l'agent en charge de cette fonction. Compte-tenu de la valeur ajoutée attendue en termes de santé publique et vétérinaire, la mission de coordination et d'animation de réseau devrait être intégrée et attribuée à plein temps à un agent d'une des structures impliquées dans le dispositif présenté en seconde partie.

III.2.2. L'évaluation de quel risque zoonotique et comment ?

Concernant l'évaluation quantitative du risque zoonotique lié au sanglier, deux perspectives de travaux apparaissent : une meilleure connaissance des populations de sangliers en termes d'effectifs, de structure et de statut sanitaire (cf. P3-I.2.2, p.168), et des modalités de consommation de viande et manipulation du gibier par enquête auprès des chasseurs et consommateurs (cf. P3-I.3, p.171). Pour la trichinellose, les résultats de l'enquête de consommation seraient à mettre en rapport avec les résultats des travaux sur la survie des larves de *Trichinella* à la congélation et au salage-séchage (cf. P2-II.1.2, p.91). Ces investigations pourraient d'ailleurs être complétées par un travail en collaboration avec les médecins généralistes et ceux des hôpitaux, ainsi que les centres humains de référence, pour mesurer plus précisément les retombées réelles des dangers zoonotiques identifiés dans la population corse.

En effet, l'évaluation du risque doit demeurer en rapport avec un objectif global de prévention de l'émergence de foyer ou de nouvelle maladie mais aussi avec le contexte local. Dans ce cadre une réflexion sur la distorsion entre le risque perçu, localement par la société, et le risque évalué, scientifiquement et le plus souvent à l'échelle nationale, devrait être approfondie. En effet, les experts peuvent identifier un risque qui leur semble important mais que l'opinion publique ignore ou minore ; à l'inverse, le risque perçu par les citoyens peut être insuffisamment pris en compte par les experts (Chevassus-au-Louis, 2002). Au lancement de notre étude, alors que nous reprenons des investigations sur la trichinellose suite à un

foyer très localisé apparu deux ans auparavant, nous avons pu noter que nombre des acteurs de terrain contactés, chasseurs et même chasseurs-éleveurs, se sentaient très peu concernés par le problème, y compris d'ailleurs dans la vallée d'émergence du parasite, alors que, parallèlement, nous étions régulièrement interpellés sur le risque lié à la tuberculose, ou dans une moindre mesure à l'hydatidose, la leishmaniose (non transmise par le sanglier), la maladie d'Aujezsky (zoonose mineure). Or le succès d'une surveillance épidémiologique nécessitant l'implication des citoyens, comme dans le cas développé ici, doit considérer l'ajustement entre les deux types de risque, sous peine de non-adhésion de l'opinion publique et de difficultés à conduire le projet d'épidémiosurveillance. C'est pourquoi, comme alternative au modèle « standard » d'évaluation du risque (cf. P1-I.2, p.23), certains proposent un modèle dit « constructiviste », impliquant une interaction entre la société civile et les experts, et conduisant à l'application de mesures de suivi et de précaution vis-à-vis de risques plausibles et compris par la population concernée (Chevassus-au-Louis, 2002).

III.2.3. Comment maintenir ou poursuivre le suivi de maladies zoonotiques chez les sangliers en Corse ?

III.2.3.1. Propositions concernant les trois agents zoonotiques étudiés

La situation épidémiologique et le risque zoonotique concernant les trois agents pathogènes étudiés dans cette thèse étant variables, les perspectives de suivi que nous pouvons proposer sont différentes.

- La trichinellose

Concernant la trichinellose dans la faune sauvage en Corse, en plus des questions méthodologiques et d'estimation de prévalence chez le sanglier (cf. P2-II.3, p.103), un travail pourrait être conduit pour identifier la présence du parasite dans la faune sauvage, mais en utilisant d'autres moyens d'investigation que ceux que nous avons mobilisés. Nous devons par exemple admettre que la capture de renards par les piégeurs locaux, notamment dans la vallée du foyer, donne peu de résultats et est difficile à maîtriser. Pourtant le recours à cette sentinelle semble pertinente au regard du pathogène étudié (Pozio *et al.*, 2009b). Nous avons réfléchi à mettre en œuvre nous même la capture de spécimens. Cette opération, trop lourde à mettre en place dans le cadre de notre mission, pourrait toutefois être une piste à explorer pour permettre un échantillonnage précis. Par ailleurs, en lien avec le LNR, une réflexion sur

l'apport de l'outil moléculaire pour la détection du parasite chez le renard (Atterby *et al.*, 2009) pourrait peut-être être envisagée.

- La toxoplasmose

Les résultats de notre étude montrent que la présence du danger est avérée et que sa répartition, bien que variable d'une région à l'autre, est généralisée à l'ensemble de l'île. Le suivi en continu de cette zoonose chez les sangliers ne nous semble donc pas nécessaire. En revanche ces résultats mériteraient d'être communiqués pour permettre d'optimiser la gestion du risque.

- La tuberculose

Dans le cas de la tuberculose à *M. bovis*, il nous semble que le sanglier en Corse devrait être placé sous surveillance approfondie de type épidémiologie (cf. P1-II.4, p.61). En effet, même si on ne peut pas à proprement parler d'émergence concernant cette maladie sur l'île, une veille régionale devrait être développée, grâce notamment à une plus large formation et information du monde cynégétique corse sur cette maladie (voir P3-III.1.1.2, p.182). Par ailleurs, au moins dans la région de Sartène, de l'Alesani et le pied du Cap Corse, cette surveillance devrait être couplée à des investigations épidémiologiques permettant de mieux comprendre le rôle des différents hôtes dans la circulation du bacille localement (cf. P2-IV.3.6.1, p.154). Enfin, dans ce contexte de région non-indemne de tuberculose, la réintroduction du cerf devrait faire l'objet d'un suivi sérieux (cf. P2-IV.3.6.2, p.156).

III.2.3.1. Surveillance des maladies zoonotiques de la faune sauvage en Corse

Le principal atout d'un programme de surveillance épidémiologique de la faune sauvage est de faciliter la détection précoce des maladies nouvelles et émergentes (ou ré-émergentes), dont certaines peuvent avoir de graves conséquences pour la santé publique et l'économie de l'élevage. C'est pourquoi les stratégies de ce suivi sanitaire doivent être réfléchies à l'échelle nationale et les infrastructures de surveillance zoosanitaire permettre en particulier de faciliter l'étude épidémiologique de ces maladies (Mornier *et al.*, 2002). Comme présenté au chapitre P1-II.4, ce suivi épidémiologique peut être actif ou passif.

- Surveillance passive

Pour résumer, cette surveillance repose sur le recueil d'animaux morts pour lesquels les gestionnaires cynégétiques de la faune sauvage souhaitent investiguer la cause de la mort

ce qui permet en théorie un suivi en continu des maladies, du gibier essentiellement. En France, ce suivi sanitaire passif est rendu possible grâce au réseau SAGIR. Mais, dans le cas de la Corse, les données recueillies via ce réseau sont quasi-inexistantes (1 ou 2 animaux par an, Moinet, com. pers.). Dans le but de permettre un recueil passif de données, il serait profitable d'explorer davantage les raisons de l'implication et de l'implantation limitées de ce dispositif. Toutefois, concernant la détection des maladies du sanglier, ce type de recueil ne semble pas particulièrement adapté en général (cf. P1-II.4, p.60), et en particulier au cas des maladies zoonotiques car elles n'entraînent que peu de symptômes visibles chez les suidés sauvages.

- Surveillance active

La surveillance active à grande échelle est coûteuse et lourde logistiquement (cf. P1-II.4, p.60, et P3-III.1.1.1, p.180). Par ailleurs, des problèmes de détection de la maladie et de faux positifs se posent quand la prévalence et la charge de l'agent zoonotique sont faibles dans la population étudiée (Artois *et al.*, 2003).

Cependant, concernant notre aire d'étude et le suivi de dangers d'importance zoonotique (e.g. *Alaria alata* ou virus de l'hépatite E, cf. P3-I.1, p.161), une surveillance active semble appropriée.

Afin de réduire les efforts d'organisation, elle pourrait être basée sur le recueil de données par des équipes de chasse ciblées, motivées et fiables (cf. P3-III.1.1.1, p.180), ce qui permettrait de constituer un réseau d'équipes de chasse sentinelles, dans l'esprit de l'antenne régionale du réseau Sentinelles de médecins, *I Sentinelli in Tramice*⁴², développé en Corse par l'Inserm, l'Université de Corse et l'INVS.

Dans cet esprit, et en parallèle de ce suivi actif direct du gibier, l'utilisation de traceur d'infection comme le renard pourrait aussi être une approche intéressante à pérenniser. Exposée mais peu ou pas sensible aux infections ou infestations, cette espèce prédatrice, carnivore et charognarde, peut développer des anticorps ou des formes infestantes (dans le cas des helminthes) de l'agent pathogène (e.g. *T. gondii* ou *Trichinella spp.*), après consommation de carcasses ou de rongeurs infectés. Ces derniers étant des réservoirs de nombreux agents zoonotiques (Mills and Childs, 1998), le suivi d'espèces comme le renard peut donc permettre la détection indirecte de la circulation ou de la présence dans l'environnement d'agents zoonotiques (Artois *et al.*, 2003), pouvant ensuite infecter les espèces gibier puis l'Homme.

⁴² Réseau Sentinelles en Corse : <http://websenti.b3e.jussieu.fr/sentiweb/?site=co>

Enfin l'acquisition de données chez les sangliers par des moyens « détournés » ne doit pas être négligée. Le fait de se focaliser sur des maladies touchant l'Homme semble en effet dans certains contextes générer des passions contre-productives et réticences aux investigations. Explorer les maladies touchant les animaux d'élevage ou bien directement les populations de sangliers peut alors permettre de bénéficier d'une certaine synergie d'action avec les organisations d'éleveurs, de santé animale ou de chasse, et de collecter néanmoins des informations sur les maladies zoonotiques. L'enquête sérologique nationale, menée en Corse en 2003-2004 à l'initiative de l'ONCFS et la DDSV2B, avait mobilisée la FDC2B sur la question de maladies intéressant les chasseurs et gestionnaires cynégétiques car pouvant impacter les populations de sangliers (peste porcine classique, maladie d'Aujeszky) (Hars *et al.*, 2007). Cette enquête avait aussi permis de collecter des données sur des maladies zoonotiques : brucellose, trichinellose et tuberculose (cf. P2-IV.1, p.141). Bien que n'intéressant pas les sangliers mais les porcs, un autre exemple de synergie d'action nous a été donné par l'étude des virus *Influenza* : nous avons pu collecter du matériel biologique pour la recherche de virus grippaux chez les porcs grâce à la mise en place par la FRGDS d'une étude à l'abattoir des maladies respiratoires, qui occasionnent de lourdes pertes économiques en élevage porcin en Corse. La collecte de données de recherche sur une zoonose a pu ainsi être menée à bien car elle permettait un éclairage concomitant de problèmes en élevage.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif scientifique du travail présenté dans cette thèse était d'éclairer l'analyse du risque de transmission de maladies du Sanglier à l'Homme en Corse, à partir de l'étude de plusieurs exemples de maladies zoonotiques. L'objectif appliqué de notre travail était ensuite de proposer des éléments pour la gestion de ce risque par les autorités sanitaires et acteurs cynégétiques sur l'île.

La première partie de notre thèse nous a permis de comprendre que la démarche d'analyse du risque zoonotique nécessitait notamment l'acquisition de données sur la prévalence et la circulation des agents pathogènes chez les animaux sources du danger, les sangliers. Nous avons montré ensuite en quoi le Sanglier est un modèle biologique intéressant dans l'étude du risque zoonotique lié au gibier sauvage : les caractéristiques biologiques et écologiques de l'espèce (comportement alimentaire, caractéristiques démographiques et utilisation de l'espace) sont propices à la circulation intra-spécifique d'agents pathogènes ; de plus cette espèce très chassée peut être source de multiples agents pathogènes pour l'Homme, transmissibles majoritairement par ingestion ou manipulation de carcasses et pouvant avoir une implication majeure en santé publique, comme les agents de la trichinellose, la toxoplasmose et la tuberculose. Concernant la Corse, nous avons souligné que le contrôle sanitaire des carcasses d'animaux domestiques faisait défaut dans une majorité de situations, et que, du fait de l'utilisation d'un même espace et des mêmes ressources, les interactions écologiques spatio-temporelles entre sangliers et animaux d'élevage, notamment le porc, étaient fréquentes. Enfin, la viande de sanglier chassée localement y est commercialisée sans contrôle sanitaire et les modes de préparation des viandes tendent à évoluer vers une moindre cuisson à cœur.

Dans ce contexte, l'étude épidémiologique de zoonoses du sanglier apparaissait une première étape indispensable à l'analyse du risque zoonotique lié à ce gibier en Corse.

Le premier temps fort du travail présenté dans la seconde partie de la thèse est la mise en place d'un dispositif permettant le suivi de maladies du sanglier transmissibles à l'Homme dans l'aire d'étude. Basée sur la structuration locale d'un réseau d'acteurs scientifiques, d'institutions et de collectifs de gestion de la santé animale et de la faune sauvage, et de chasseurs, ce dispositif a permis la collecte de plus de 1900 échantillons de muscles de sangliers prélevés dans quasiment toutes les micro-régions de l'île pendant deux saisons de chasse, de septembre 2006 à janvier 2008.

La première valorisation attendue de cette collecte de données concernait la surveillance et l'étude épidémiologique approfondie de la trichinellose chez les sangliers de l'ensemble du territoire de Corse, suite à un foyer à *Trichinella britovi* déclaré chez des porcs et un renard en 2004 dans une vallée de Corse-du-Sud. Au cours des deux campagnes de prélèvements, aucune larve de *Trichinella* n'a été mise en évidence parmi les sangliers testés, indiquant une prévalence parasitaire nulle chez les sangliers de l'île (au seuil de détection de la méthode, c'est-à-dire de 1 larve/g). D'interprétation difficile, du fait du choix d'un seuil de positivité délicat pour la faune sauvage, l'étude sérologique des mêmes individus ne permet pas de poser des conclusions arrêtées : la présence de trichinellose chez les sangliers n'est pas exclue mais la fréquence de l'infection chez ces suidés ne peut être estimée de manière définitive. Aussi, ces travaux demandent à être complétés par l'amélioration des outils diagnostiques de la trichinellose dans la faune sauvage, actuellement en cours au LNR des *Trichinella*, et une meilleure compréhension du cycle sauvage de *Trichinella* dans l'aire d'étude. Par ailleurs, en l'absence d'infirmité de la présence, le risque de transmission du Sanglier à l'Homme par consommation de viande doit être considéré comme plausible et les mesures de précaution doivent être conservées (cuisson adéquate de la viande et test des carcasses commercialisées).

Dans un deuxième temps, la collecte d'échantillons via le dispositif a permis de montrer que les sangliers en Corse étaient fortement exposés au parasite *Toxoplasma gondii* sur la quasi-totalité de l'île (séroprévalence de 55% en 2006-2007 et de 33% en 2007-2008). L'analyse de facteurs de risque a mis en évidence que les sangliers insulaires étaient davantage exposés à l'agent zoonotique dans les communes d'altitude à forte densité de fermes et au paysage peu fragmenté. L'analyse moléculaire a quant à elle permis de déterminer que la souche de *Toxoplasma gondii* présente chez les sangliers était de type II, c'est-à-dire de type identique à celui incriminé dans les cas de toxoplasmose humaine. Ces résultats indiquent que l'exposition au risque zoonotique de toxoplasmose par consommation et manipulation de viande de sanglier est forte sur l'ensemble de l'île, mais davantage encore dans certaines micro-régions d'élevage de montagne. Il serait souhaitable que ces résultats soient confrontés à une enquête de consommation des viandes de gibier dans l'aire d'étude pour mieux estimer le risque zoonotique.

Enfin, dans un troisième temps, le dispositif de surveillance mis en place, puis des travaux d'épidémiologie moléculaire, ont permis de comprendre que sangliers, bovins et porcs corses étaient impliqués dans un même cycle de tuberculose à *Mycobacterium bovis*. Nos travaux ne permettent pas de déterminer davantage pour le moment le rôle de chacune

des espèces dans la circulation du bacille, mais soulignent que le phénomène doit être appréhendé de manière concomitante chez les bovins (amélioration de la prophylaxie), chez les sangliers (compréhension du rôle de l'espèce et de l'ampleur de l'infection dans les populations), et les cerfs (suivi du programme d'introduction), pour pouvoir à terme maîtriser en Corse la tuberculose dite bovine, maladie de grande importance économique en élevage et transmissible à l'Homme.

La troisième partie de cette thèse discute les résultats obtenus et les perspectives qui en découlent. Le risque zoonotique ne peut être actuellement évalué quantitativement et le travail effectué doit être complété par des développements visant notamment à mieux comprendre la structuration démographique et spatiale de la population source, la circulation des agents zoonotiques entre les différents hôtes, sauvages et domestiques, et l'exposition humaine au danger. Par ailleurs, le maintien d'un dispositif de d'épidémiosurveillance en réseau en Corse, à la fois scientifique pluridisciplinaire et de terrain participatif, renvoie à la nécessité d'avoir une coordination locale pérenne, pour notamment assumer le travail important d'animation du dispositif.

Toutefois, nos premiers résultats conduisent à insister sur la nécessité, sur l'île, d'une meilleure gestion des carcasses et viscères d'animaux sauvages et domestiques et de la poursuite du travail d'information et de formation des populations de chasseurs concernant les maladies zoonotiques, en particulier la tuberculose.

Finalement, les enseignements tirés de nos travaux bibliographiques et épidémiologiques concernant un gibier modèle, le sanglier, nous permettent d'éclairer la problématique plus générale des zoonoses liées au gibier sauvage. Les populations de gibier intéressent particulièrement l'étude du risque zoonotique : du fait des forts effectifs chassés, les contacts entre l'homme et l'animal sauvage sont importants au moment de l'activité de chasse et, ensuite, de grandes quantités de viande sont consommées ; l'exposition au risque est donc forte. De plus, en théorie, l'étude des maladies rendue plus facile car le matériel biologique prélevé sur les carcasses est facilement disponible à relativement peu de frais.

En pratique, ce travail épidémiologique est complexe puisqu'il requiert une meilleure compréhension à la fois de l'écologie des espèces sauvages, des systèmes faune sauvage-pathogènes et des comportements humains favorisant l'exposition au risque. Concernant le risque alimentaire, ce dernier point comprend notamment l'éclairage des contextes sociaux et culturels de consommation. Il est nécessaire en outre d'intégrer les données collectées chez

l'Homme, l'animal domestique et la faune sauvage. Par ailleurs, comme les agents pathogènes recherchés entraînent généralement peu de symptômes chez l'animal sauvage, leur présence est difficile à détecter par une surveillance lésionnelle. Chez le grand gibier, les agents zoonotiques n'entraînent généralement pas la mort des individus, ce qui rend la surveillance passive moins efficace. De plus, lorsque la maladie est invisible chez l'animal chassé et de symptomatologie le plus souvent fruste chez l'Homme, le risque zoonotique est alors minoré par les chasseurs, qui s'impliquent plus difficilement dans les programmes de surveillance. Enfin, la détection des agents pathogènes du gibier à l'aide des outils de laboratoire est délicate : les méthodes utilisées pour le diagnostic des maladies chez les animaux domestiques ne sont pas toujours transposables aux populations sauvages, du fait notamment de la réponse immunitaire moins bien connue et de réactions croisées très certainement plus nombreuses chez l'animal sauvage.

Aussi, pour pouvoir investiguer et surveiller les maladies zoonotiques dans les populations chassées, il est nécessaire de développer, en parallèle, une meilleure connaissance des populations chassées en termes de structure démographique et spatiale, des méthodes de détection des agents pathogènes chez l'animal sauvage et d'interprétation des tests diagnostiques, et des outils épidémiologiques de surveillance. Par ailleurs si les stratégies de suivi sanitaire doivent être réfléchies à l'échelle nationale, la mise en application de ce suivi sanitaire de la faune sauvage y compris gibier nous paraît devoir être raisonnée en fonction du contexte local. L'utilisation d'espèces animales « traceurs » d'infections comme le renard pourrait alors être associée à la structuration de réseau de sentinelles humaines, c'est-à-dire d'équipes de chasse de référence formées à la détection de lésions et la réalisation de prélèvements, pour sonder en continu la présence de zoonoses et faciliter la détection des émergences liées à la faune gibier.

Annexe 1 : Publications et communications en lien avec la thèse

Publications scientifiques

Richomme C., Aubert D., Gilot-Fromont E., Ajzenberg D., Mercier A., Ducrot C., Ferté H., Delorme D., and I. Villena (2009). **Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France.** *Veterinary Parasitology*, 164 (2-4), 296-300.

Richomme C., Boschioli M.L., Hars J., Casabianca F. and C. Ducrot. **Bovine tuberculosis in livestock and wild boar in a Mediterranean island, Corsica.** *Journal of Wildlife Diseases*, in press.

Aubert D., Ajzenberg D., Richomme C., Gilot-Fromont E., Terrier ME. , de Gevigney C., Game Y., Maillard D., Gibert P., Dardé ML., and I Villena. **Molecular and biological characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France.** Soumis.

Richomme C., Afonso E., Tolon V., Ducrot C., Halos L., Alliot A., Perret C., Thomas M., Boireau P., and E. Gilot-Fromont. **Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean island.** Soumis.

Richomme C., Lacour S.A., Ducrot C., Gilot E., Casabianca F., Maestrini O., Vallée I., Grasset A., van der Giessen J., and P. Boireau. **Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*) in a French insular region.** Manuscrit en cours de préparation.

Communications

Richomme C., Gilot E. et Ducrot C. (2009). Epidémiologie de la trichinellose chez le sanglier (*Sus scrofa*) en Corse. Communication orale aux *Journées de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé*, Clermont-Ferrand, France.

Richomme C., Afonso E., Tolon V., Halos L., Alliot A., Perret C., Thomas M., Boireau P., Ducrot C., Casabianca F.1, Aubert D., Villena I. and Gilot-Fromont E. (2008). **Toxoplasmosis in corsican wildboar: a first epidemiological study.** Communication affichée au *Xth European Multicollquium Of Parasitology (EMOP)*, Paris, France.

Richomme C., Hars J., Casabianca F., Ducrot C., Game Y., Lacanal J., Chenut G. et Boschioli M.L. (2008). **La tuberculose à *M. bovis* et le Sanglier : situation en Corse et réflexion autour du rôle de l'espèce dans l'épidémiologie de la maladie.** Communication orale aux *26èmes Rencontres du Groupement d'Etude de l'Ecopathologie de la Faune Sauvage de Montagne*, Faucon de Barcelonnette, France.

Richomme C., Casabianca F., Maestrini O. and Boireau P. (2007). **Trichinellosis and extensive farming system: an eco-epidemiological approach of the sanitary situation in insular area of Corsica.** Communication orale au 6th International Symposium on the Mediterranean Pig, Capo d'Orlando, Sicilia, Italy.

Article de vulgarisation

« Sanglier et trichinellose : surveillance régionale ». *Le chasseur de Corse* (journal d'information de la Fédération Régionale des Chasseurs de Corse). Juillet 2008.

Annexe 2 : Réalisations de chasse aux sangliers en Corse-du-Sud lors de la campagne de chasse 2006-2007. Source : Fédération Des Chasseurs de Corse-du-Sud. Les croix dans la colonne « carnet de battue » signifient que les données ont été obtenus d'après les carnets de battue, les autres par contact téléphonique auprès des chefs de battue.

Code INSEE	Commune	Réalisations	Carnet de battue
2A001	AFA	30	x
2A004	AJACCIO	125	x
2A006	ALATA	15	x
2A008	ALBITRECCIA	20	x
2A011	ALTAGENE	52	x
2A014	AMBIGNA	10	
2A017	APPIETTO	10	
2A018	ARBELLARA	100	
2A019	ARBORI	39	x
2A021	ARGIUSTA-MORICCIO	16	x
2A022	ARRO	77	x
2A024	AULLENE	65	x
2A026	AZILONE-AMPAZA	59	x
2A027	AZZANA	69	x
2A028	BALOGNA	71	x
2A031	BASTELICA	143	x
2A032	BASTELICACCIA	15	
2A035	BELVEDERE-CAMPOMORO	27	
2A038	BILIA	60	
2A040	BOCOGNANO	94	x
2A041	BONIFACIO	37	x
2A048	CALCATOGGIO	94	x
2A056	CAMPO	12	x
2A060	CANNELLE	8	
2A061	CARBINI	115	
2A062	CARBUCCIA	20	
2A064	CARDO-TORGIA	10	
2A065	CARGESE	139	x
2A066	CARGIACA	50	
2A070	CASAGLIONE	38	x
2A071	CASALBRIVA	80	x
2A085	CAURO	29	x
2A089	CIAMANNACCE	59	x
2A090	COGGIA	108	x
2A091	COGNOCOLI-MONTICCHI	76	x
2A092	CONCA	60	x
2A094	CORRANO	12	x
2A098	COTI-CHIAVARI	122	x
2A099	COZZANO	57	
2A100	CRISTINACCE	20	x
2A103	CUTTOLI-CORTICCHIATO	35	x
2A104	ECCICA-SUARELLA	46	x
2A108	EVISA	54	x
2A114	FIGARI	38	x
2A115	FOCE	50	
2A117	FORCIOLO	20	
2A118	FOZZANO	172	x
2A119	FRASSETO	16	x
2A127	GIUNCHETO	117	x
2A128	GRANACE	33	x
2A129	GROSSA	55	
2A130	GROSSETO-PRUGNA	30	x
2A131	GUAGNO	15	
2A132	GUARGUALE	48	
2A133	GUITERA-LES-BAINS	30	
2A139	LECCI	50	
2A141	LETIA	22	x
2A142	LEVIE	100	
2A144	LOPIGNA	77	x

(Annex 2, suite)

Code INSEE	Commune	Réalisations	Carnet de battue
2A146	LORETO-DI-TALLANO	33	x
2A154	MARIGNANA	60	x
2A158	MELA	22	x
2A160	MOCA-CROCE	40	
2A163	MONACIA-D'AULLENE	242	x
2A174	MURZO	23	x
2A181	OCANA	53	x
2A186	OLIVESE	50	
2A189	OLMETO	123	x
2A191	OLMICCIA	30	
2A196	ORTO	10	x
2A197	OSANI	60	x
2A198	OTA	186	x
2A200	PALNECA	50	
2A203	PARTINELLO	15	x
2A204	PASTRICCIOLA	28	
2A209	PERI	28	x
2A211	PETRETO-BICCHISANO	136	x
2A212	PIANA	164	x
2A215	PIANOTTOLI-CALDARELLO	60	x
2A228	PIETROSELLA	30	
2A232	PILA-CANALE	30	x
2A240	POGGIOLO	15	
2A247	PORTO-VECCHIO	98	x
2A249	PROPRIANO	208	x
2A253	QUASQUARA	15	
2A254	QUENZA	60	x
2A258	RENNO	10	x
2A259	REZZA	11	x
2A262	ROSAZIA	25	
2A266	SALICE	30	x
2A268	SAMPOLO	20	
2A269	SARI-SOLENZARA	40	
2A270	SARI-D'ORCINO	44	
2A271	SARROLA-CARCOPINO	23	
2A272	SARTENE	346	x
2A276	SERRA-DI-FERRO	79	x
2A278	SERRA-DI-SCOPAMENE	30	
2A279	SERRIERA	76	x
2A282	SOCCIA	87	x
2A284	SOLLACARO	70	
2A285	SORBOLLANO	26	x
2A288	SOTTA	258	x
2A295	SANT'ANDREA-D'ORCINO	39	x
2A300	SAN-GAVINO-DI-CARBINI	57	x
2A308	SAINTE-LUCIE-DE-TALLANO	61	x
2A310	SANTA-MARIA-FIGANIELLA	60	x
2A312	SANTA-MARIA-SICHE	58	x
2A322	TASSO	40	
2A323	TAVACO	63	x
2A324	TAVERA	21	
2A326	TOLLA	80	x
2A330	UCCIANI	22	
2A331	URBALACONE	12	
2A336	VALLE-DI-MEZZANA	52	
2A345	VERO	103	x
2A348	VICO	264	x
2A349	VIGGIANELLO	61	x
2A351	VILLANOVA	28	x
2A357	ZERUBIA	16	
2A358	ZEVACO	30	
2A359	ZICAVO	60	
2A360	ZIGLIARA	45	
2A362	ZONZA	93	x
2A363	ZOZA	30	
Total	Corse-du-Sud	7590	

Annexe 3 : Analyse statistique des résultats sérologiques de trichinellose obtenus par test ELISA (antigène E/S) de 1486 échantillons de fluide musculaire de sangliers prélevés en Corse en 2006-2008 à l'aide d'une méthode de mélange de deux lois normales.

Material and method

A Gaussian mixture model (Marin et al., 2005) was used to describe the distribution of the log-transformed S/P%-values (sample/positive) with two mixture components corresponding to infected and non-infected animals. This model is graphically described in **Figure 1** with logical and stochastic links defined in **Table 1**. The unknown infection status S_i of the sampled animal (equal to 1 for infected and 0 for non-infected) is supposed Bernoulli distributed, with parameter P the prevalence in the sampled population. Conditioned on this latent infection status S_i , the model assumes that the decimal logarithm of the -values Y_i follows a Normal distribution, where the mean μ_i and standard deviation σ_i are controlled only by the infection status. The mean of the normal distribution for infected animals was supposed to be greater than the one of non-infected animals ($\mu_{non-inf}$), and parameterized by θ , the positive difference between these two means ($\mu_{inf} = \mu_{non-inf} + \theta$). This parameterization is used to prevent the MCMC algorithm to converge to a one component mixture.

A Bayesian approach was used to estimate the five parameters of the model (P , $\mu_{non-inf}$, θ , σ_{inf} and $\sigma_{non-inf}$) from the data and from the prior knowledge of these parameters. A non informative uniform prior distribution on [0,1] was chosen for the prevalence. Vaguely informative priors allowing variations within a relevant range were used for location parameters $\mu_{non-inf}$ and θ : a normal distribution with mean 1 and standard deviation 0.5, with a censoring of negative values for .

Precision parameters ($\tau_{inf} = 1/\sigma_{inf}^2$ and $\tau_{non-inf} = 1/\sigma_{non-inf}^2$) were drawn in Gamma distributions of shape parameter equal to 0.001 and scale parameter equal to 0.001 as commonly done in Bayesian practice for picking non informative precision priors.

The model was implemented in JAGS (Plummer, 2008) using the R interface "rjags". After a "burn-in" phase of 5000 iterations, the convergence of the MCMC algorithm was checked by analyzing three independent MCMC chains and inferences were made on the following 10000 iterations.

To determinate a S/P% cut-off and classify sera into positives and negatives, we constructed the ROC curve with parameters of the Gaussian mixture model and chose a specificity of 99% to lower the risk of false seropositives.

Confidence limits of prevalence were established by Exact Binomial Test with 95% confidence interval. Association between age and gender with serological results was assessed by logistic regression and estimation of the odds-ratio. Significance of the heterogeneity in prevalence of *Trichinella* antibodies at the county scale was assessed using a Log likelihood ratio test of independence (G-test) (McDonald, 2008). The differences were considered statistically significant when $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using the R (R Development Core Team, 2008).

Results

The observed distribution is represented in **Figure 2** on a histogram and a cumulative density plot, together with the Gaussian mixture distribution, with parameters fixed to the median values of the empirical posterior distributions. Descriptive statistics of empirical posterior distributions of parameters of the Gaussian mixture model are summarized in **Table 2**. The prevalence in the sampled population was estimated to 0.55, with a 95% credibility interval [0.50; 0.60].

With specificity of 99%, the S/P% cut-off was 16.98% with a 95% confidence interval [15.72;18.50] and 648 wild boars were considered as seropositives, among which 563 (86.9%) were adults and 76 (11.7%) were juveniles (none age for 9 seropositive samples). The apparent seroprevalence was thus 43.4% (confidence interval 40.9%–45.9%) and the correspondent sensitivity 79.4 % (ROC curve presented in **Figure 3**).

Seroprevalence in adults (46%, 95% IC 43.6% - 49.3) was significantly higher than in juveniles (33%, 95% IC 27.1% - 39.5%) (Odd-ratio=1.75, IC 95% 1.31-2.38, $p=0.0002$), and higher in females (48%, 95% IC 43.9% - 51.6%) than in males (41%, 95% IC 37.6% – 44.8%) (Odd-ratio=1.29, IC 95% 1.06-1.61, $p=0.0123$).

We observe seropositivity in the entire island, even far from the outbreak of 2004 (**Figure 4**). Seroprevalence is heterogenic at the county scale (Log likelihood ratio test (G) = 254.8919, p -value = 1.902e-10).

Tables and figures

Table 1. Description of the links indicated in Figure 1

Node	Type	Definition
S_i	Stochastic	$Bern(P)$ (a quantity from a Bernouilli distribution with parameter P)
μ_i	Logical	$\mu_{non-inf}$ if $S_i = 0$ $\mu_{non-inf} + \theta$ if $S_i = 1$
σ_i	Logical	$\sigma_{non-inf}$ if $S_i = 0$ σ_{inf} if $S_i = 1$
Y_i	Stochastic	$N(\mu_i, \sigma_i)$ (a quantity from a normal distribution with expected value μ and standard deviation σ)

Figure 1. Directed acyclic graph of the model. All model quantities are presented as nodes. Data are denoted by rectangles and parameters are denoted by ellipses. Arrows run between nodes from their direct influence (“parents to the descendants”), indicating the conditional independence assumptions of the model: given its parent nodes, each node is independent of all other nodes in the graph except its descendants. Solid arrows indicate stochastic dependences while dashed arrows indicate logical functions. Stochastic and logical links are fully described in Table 1.

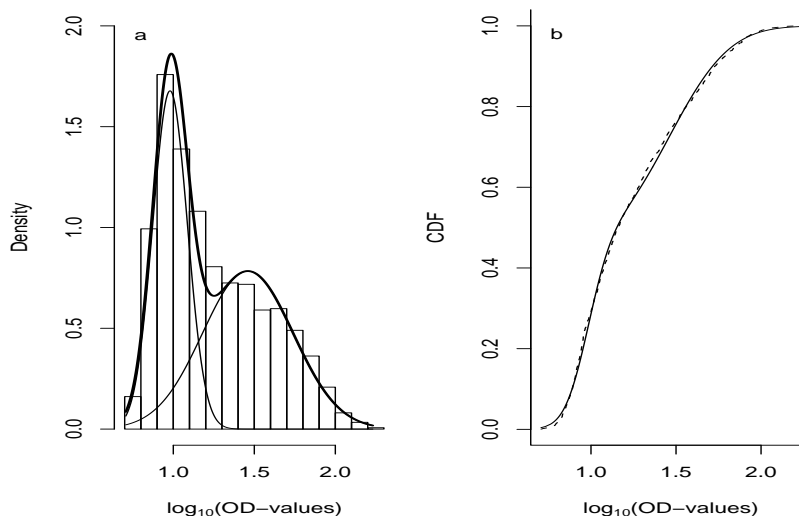
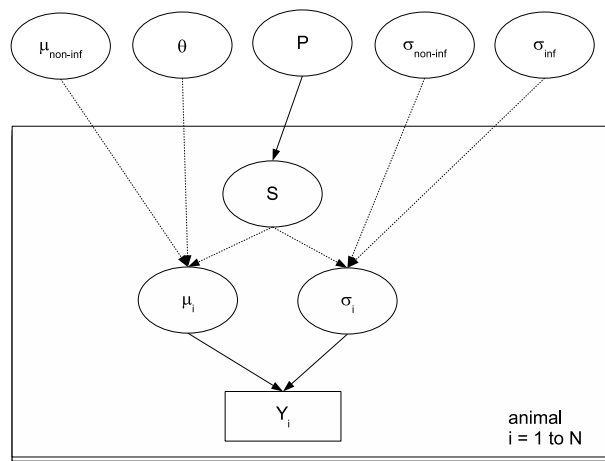


Figure 2. Serological and goodness-of-fit graphs: a) histogram of observed decimal logarithm OD-values with density plot of both the fitted mixture distribution (larger line) and each of the two distributions characterizing infected and non-infected animals; b) cumulative density plot of the observed values (dashed line) and the fitted mixture distribution (plain line).

Table 2. Descriptive statistics of empirical posterior distributions of parameters of the Gaussian mixture model.

Parameter	Mean	S.D.	Median	2.5 th percentile	97.5 th percentile
P	0.552	0.026	0.552	0.499	0.603
$\mu_{non-inf}$	0.981	0.007	0.980	0.967	0.995
$\sigma_{non-inf}$	0.107	0.005	0.107	0.097	0.118
$\mu_{inf} = \mu_{non-inf} + \theta$	1.459	0.019	1.459	1.423	1.496
σ_{inf}	0.279	0.010	0.279	0.259	0.299

Figure 3. The ROC curve with parameters of the Gaussian mixture model fixed to the medians of the empirical posterior distributions (black line) and 1000 other Roc curves with parameters sampled from the joint empirical posterior distribution (grey lines).

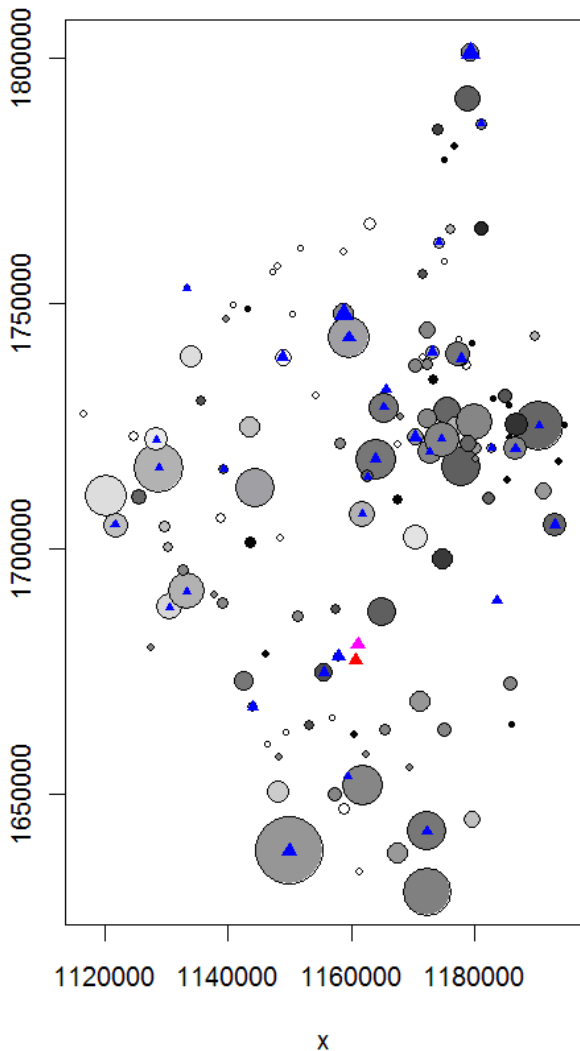
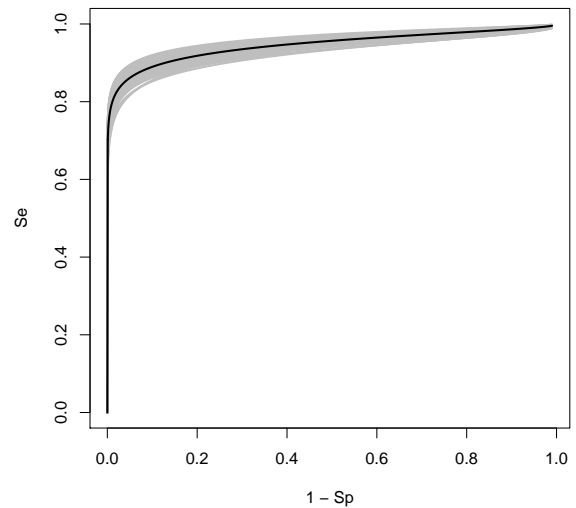


Figure 4. Cartography of the serological results per county of the survey for *Trichinella spp.* in Corsica during 2006-2008 in wild boars (n=1492) and collection of foxes (n=74). Coordinate x and y correspond to the latitude and longitude of the centroid of each county. The size of circles is proportional to the number of wild boars collected in the county, and grey gradient is proportional to seroprevalence in the county for this species (from 0, white circles, to 100%, anthracite grey circles). The size of green triangles is proportional to the number of red foxes collected in the county. Pink triangle situates the domestic swine outbreak (10 pigs) and red triangle the fox found positive in *T. britovi* larvae in 2004.

Références

- Marin, J.M, Mengersen K., and C.P. Robert (2005). Bayesian modelling and inference on mixtures of distributions. In D. Dey and C.R. Rao, editors, Handbook of Statistics, volume 25, 459–507
- Plummer, M. 2008. JAGS Version 1.0.3 manual. (http://www-ice.iarc.fr/~martyn/software/jags/jags_user_manual.pdf)
- McDonald, J.H. (2008). In: Handbook of Biological Statistics. Baltimore, Maryland: Sparky House Publishing, pp. 58-63.
- R Development Core Team (2008). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing; <http://www.R-project.org>.

Annexe 4 : Molecular and biological characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France. Article soumis à *Veterinary Parasitology*

D. Aubert^{1*}, D. Ajzenberg², C. Richomme^{3,4}, E. Gilot-Fromont⁵, ME. Terrier⁶, C. de Gevigney⁷, Y. Game⁸, D. Maillard⁹, P. Gibert¹⁰, ML. Dardé², I Villena¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3800, IFR53, Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / Toxoplasma Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire de Reims, 45 Rue Cognacq Jay, F-51092 Reims, France

² Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose / Toxoplasma Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire Dupuytren, F-87042 Limoges, France and Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3174-NETEC, Faculté de Médecine, Université de Limoges, F-87025 Limoges, France;

³ INRA, UR 346, Epidémiologie animale, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand, site de Theix, F-63122 Saint Genes Champanelle, France

⁴ INRA, UR 45, Laboratoire de Recherche sur le Développement de l'Elevage, Quartier Grossetti, F-20250 Corte, France

⁵ Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, 43 boulevard du 11 novembre 1918, F-69622 Villeurbanne, France

⁶ AFSSA LERRPAS, domaine de pixérécourt, BP9, F-54220 Malzeville, France

⁷ Parc de Belval, F-08240 Bois des Dames, France

⁸ Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires de la Savoie, 321 Chemin des Moulins, F-73000 Chambéry, France

⁹ Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Centre National d'Etude et de Recherche Appliquée Faune de Montagne, BP 74267, F-34098 Montpellier Cedex 5, France;

¹⁰ Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Unité Suivi Sanitaire de la Faune, F-73250 Saint Pierre d'Albigny, France

* Corresponding author: D. Aubert

Tel: +33 3 26 78 42 20; fax : +33 3 26 78 73 28

E-mail address: daubert@chu-reims.fr

Abstract:

T. gondii isolates have been classified into 3 genetic types. Little is known about genotypes of *T. gondii* isolates in wild animals in Europe. In this report, genotypes of *T. gondii* isolates from wildlife in France are described. Sera from wildlife were tested for antibodies to *T. gondii* with the modified agglutination test, and the heart from animals with titers superior or equal to 1:6 was bioassayed individually in mice. *T. gondii* was isolated from 9 of 14 seropositive red foxes (*Vulpes vulpes*), 12 of 33 roe deers (*Capreolus capreolus*), 1 of 4 deers (*Cervus elaphus*), 1 of 7 mouflons (*Ovis gmelini musimon*), and 1 of 2 common mallards (*Anas platyrhynchos*). No isolate was obtained by bioassay in mice of 1 fallow deer (*Dama dama*) and of 3 European brown hares (*Lepus europaeus*). Genotyping of the 24 isolates using PCR-RFLP and microsatellite markers indicated that all were type II and none of these *Toxoplasma* isolates were virulent for mice.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; Wild animals; Bioassay; Genotype, France.

1. Introduction

The protozoan *T. gondii* is a zoonotic obligate intracellular parasite that infects man and a wide variety of birds and mammals including felidae, which serve as hosts to the sexual phase of replication. *T. gondii* infections are widely prevalent in human and animals worldwide (Dubey and Beattie, 1988; Tenter *et al.*, 2000).

The population structure of *T. gondii* in Europe and North America consists of three distinct clonal lineages known as types I, II and III (Sibley and Boothroyd, 1992; Howe and Sibley, 1995) while difference at DNA sequence level among the predominant clonal lineages is less than 2% (Grigg *et al.*, 2001). Recent studies have reported that the isolates of *T. gondii* from Brazil and South America are biologically and genetically different from those in North America and Europe (Dubey *et al.*, 2002; Demar *et al.*, 2008). In France, type II largely predominates in human congenital toxoplasmosis (Ajzenberg *et al.*, 2002) and in immunocompromised patients (Ajzenberg *et al.*, 2009), as well as in domestic animals (Dumètre *et al.*, 2006). However, little is known about *T. gondii* prevalence and genotype distribution in French wildlife species.

In this paper, parasite isolation was attempted from several wildlife species and isolates were genetically characterized using polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and microsatellite markers.

2. Material and methods

2.1 Animals surveyed

Roe deer (*Capreolus capreolus*, n=60), mouflon (*Ovis gmelini musimon*, n=31), red deer (*Cervus elaphus*, n=24), fallow deer (*Dama dama*, n=4), red fox (*Vulpes vulpes*, n=19), European brown hares (*Lepus europaeus*, n=23) and common mallard (*Anas platyrhynchos*, n=4) were hunted in France during the hunting seasons 2003-2008. Roe deers, red deers, fallow deers, European brown hares, and common mallard originated from the Region Champagne-Ardenne (25,606 km²) in the North-East of the continental France (49°0'N, 4°3'E), red foxes from the Region Lorraine (23,547 km²; 48°7'N, 6°2'E) and from the island of Corsica in the Mediterranean sea (8,680 km², 42°9'N, 9°5'E), and the mouflons from the Region Languedoc-Roussillon (Caroux-Espinouse massif, 43 698 km², 43°4'N, 2°6'E) in the South of France. The blood samples from hunted animals were collected from the thoracic cavity with a syringe. Hearts were collected and placed in sterile plastic collectors containing suspension of 0.9% (w:v) saline additioned with antibiotics (120,000U/L penicillin-G and 120 mg/L streptomycin). Hearts and sera were kept at 4°C for 1-5 days and transported to the laboratory of Parasitology in Reims.

2.2 Serologic examination for *T. gondii*

Fluid samples were tested for antibodies to *T. gondii* with the modified agglutination test (MAT) as previously described (Dubey and Desmonts, 1987). Sera were diluted two-fold, starting at a 1:6 dilution and screened until a dilution of 1:12,800. Positive and negative controls were included in each test. In accordance with previous studies, sera with an agglutination titer of 1:25 or higher were considered as positive.

2.3 Bioassay for *T. gondii* in mice

Hearts of individuals with positive agglutination reaction (starting at a 1:6 dilution) were bioassayed in outbreed female Swiss Webster mice (Charles River Laboratory, France) (Villena *et al.*, 2004). Whole heart, or maximum 200 g of heart, was mixed and incubated at 37°C during 2.5 hours with trypsin (final concentration 0.25%). The suspension was then filtered, centrifuged, washed and suspended in saline solution containing penicillin G and streptomycin. The homogenate was inoculated intraperitoneally to 3 to 6 mice, depending on the volume of the centrifugation pellet. Mice were tested for seroconversion with the MAT

(1:25 dilution) 4 weeks postinoculation (pi) and finally sacrificed 60 days pi. Tissue cysts in brains of seropositive mice were detected by microscopic examination.

2.4 Genotyping of *T. gondii* isolates

Brain cysts from seropositive mice were isolated by percoll gradient centrifugation and DNA was then extracted using QIAamp DNA minikit (Qiagen, Courtaboeuf, France). Strain typing was performed using three PCR–RFLP markers (*SAG1*, *SAG2*, and *GRA7*) with RH, PRU and NED strains (Biological Resource Center for *Toxoplasma*, Reims, France) used as controls of genotypes I, II and III, respectively. Genetic characterization was also performed at six microsatellite loci in a multiplex PCR assay (*TUB2*, *TgM-A*, *W35*, *B17*, *B18* and *M33*) (Ajzenberg *et al.*, 2005; Dubey *et al.*, 2007).

3. Results

Toxoplasma gondii antibodies were found in 14 of 19 (73.7%) red foxes, with titers between 1:25 and 1:6400 (Table 1). All the mice inoculated with heart tissue from one fox died at day 3 due to bacterial infection and parasite isolation was successful in 9/13 seropositive animals (69.2 %).

Table I: *T. gondii* isolates from wildlife animals in France.

Host	Number of samples	Positive at 1:6 (%) ¹	Seroprevalence (%) (cut-off 1:25)	Number of samples bioassayed	Number of isolates	Isolation prevalence
Roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>)	60	36 (60)	24 (40)	33*	12/32	38%
Mouflon (<i>Ovis gmelini</i>)	31	7 (23)	5 (16)	7**	1/4	25%
Red deer (<i>Cervus elaphus</i>)	24	4 (17)	1 (4)	4*	1/3	33%
Fallow deer (<i>Dama dama</i>)	4	1 (25)	1 (25)	1	0/1	0
Hare (<i>Lepus europaeus</i>)	23	3 (13)	2 (9)	3*	0/2	0
Fox (<i>Vulpes vulpes</i>)	19	14 (74)	14 (74)	14*	9/13	69%
Mallard (<i>Anas platyrhynchos</i>)	4	2 (50)	2 (50)	2	1/2	50%

¹ Samples bioassayed in mice when MAT titer \geq 1:6, when possible

* One bioassay not analysed because all mice died between day 1 and 3.

** Three bioassays not analysed because all mice died between day 1 and 3.

Thirty six of the 60 roe deers (60%) showed antibodies with titers between 1:6 and 1:6400 (Table 1). Thirty three bioassays were performed, 12 isolates were obtained from animals with antibodies titers of 1:25 (1), 1:50 (1), 1:100 (2), 1:200 (1), 1:400 (1), 1:800 (2), 1:1600 (1) and 1:6400 (3). *Toxoplasma gondii* antibodies were found in 7 of 31 mouflons (23%) with titers between 1:6 and 1:6400. Viable parasite was isolated from the heart of one mouflon with titer of 1:100. *T. gondii* antibodies were found in 4 of 24 red deer (17%) with titers of 1:6 (2), 1:10 (1) and 1:25 (1). Viable parasite was isolated from the heart of one red deer with titer of 1:6. None parasite was isolated from fallow deer with only one positive with titer of 1:25. Similarly, among two seropositive hares with titers of 1:25 and 1:100; all the mice inoculated with heart tissue from the hare at 1:100 died at day 3 post inoculation.

Two of the four mallards sampled had *T. gondii* antibodies with titer of 1:50 and the parasite isolation was successful in one case of two.

Genotyping of the 24 *T. gondii* isolates using the 3 PCR–RFLP markers and the six microsatellite markers revealed a type II genotype for all isolates (table 1) and none of the *Toxoplasma* isolates were virulent for mice.

4. Discussion

Recently, attention has been focused on the genetic and the biologic variability among *T. gondii* isolates. Little is known about the genetic type and virulence in mice exposed to *T. gondii* isolates in wildlife in Europe. In this study, parasite isolation was attempted on several wildlife species from France and isolates were characterized using RFLP-PCR and microsatellite analysis. Data from wild boars were not included (Richomme *et al.*, 2009).

The highest seroprevalence of *T. gondii* has been attested in red foxes. Using a cutoff titer of 1:25 in MAT, antibodies were found in 74% of red foxes and the parasite has been isolated in 69% of seropositive animals. Previous study showed that *T. gondii* infections are more prominent among animal species at the upper end of the food chain (Smith and Frenkel, 1995). The high prevalence in foxes illustrate the cumulative efficacy of the predator-prey cycle of *T. gondii* experienced by the secondary and tertiary consumers forming the apex of the predation pyramid. As a consequence, wild carnivores such foxes could act as indicators of the presence of *T. gondii*. In a large survey on red foxes in USA, with the same test and the same cutoff, Dubey *et al.* (1999) reported a seroprevalence of 85.9% (243/283). A high seroprevalence was also found in Belgium (77-98%) (Losson *et al.*, 1999; Buxton *et al.*; 1997) and in Hungary (68%, Jakubek *et al.*, 2007). Seroprevalence in North Europe was lower: 38% in Sweden (Jakubek *et al.* 2001), 31% in Norwegian and Swedish foxes (Kapperud, 1978), 20% in United Kingdom and 47% in Ireland (Hamilton *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2001). Little is known of the sensitivity and specificity of different serological test for the diagnosis of *T. gondii* in carnivores. Dubey *et al.* (1999) have shown in a study based on 4 experimentally infected foxes that MAT and Dye Test were more sensitive than indirect hemagglutination test (IHAT) or Latex Agglutination Test. Nevertheless, no large-scale study has been reported comparing antibody titers and bioassay to detect viable *T. gondii* in carnivores. About parasitological prevalence, De Lalla *et al.* (1967) isolated *T. gondii* from 5 of 17 (29%) Italian red foxes whereas seroprevalence was 43.3%. In Denmark, six strains of *T. gondii* were isolated from foxes, but the genotype was not determined (Jensen *et al.*, 1998). *Toxoplasma gondii* was isolated from one seropositive fox (Dubey *et al.*, 2004) and was of type II. All the 9 strains isolated from foxes (6 animals originated from the Region Champagne-Ardenne in the North-East of the continental France, and 3 from Corsica, a Mediterranean island) were type II and avirulent for mice.

Several studies in North America have indicated that wild cervids are carriers of *T. gondii* cysts (Lindsay *et al.*, 1991; Vanek *et al.*, 1996; Zarnke *et al.*, 2000). European cervids are to a lesser extent examined. In the Czech republic, 15 and 14% of the tested red deer and roe deers, respectively, had antibodies against *T. gondii*, but tissue cysts were not isolated from these two species (Hejlíček *et al.*, 1997). Kapperud (1978) reported seroprevalence of 12 and 63% and Vikoren *et al.* (2004) 7.7 and 33.9% in Norwegian red and roe deer respectively. Recently, using the MAT and a cut-off titer of 1:25, Gauss *et al.* (2006) showed that antibodies were detected in 15.6% of red deer (n=441) and 21.9% of roe deer (n=33) and Gamarra *et al.* (2008) found *T. gondii* antibodies in 39.2% roe deer (n=238) in Spain. Using the same cut-off, we found a prevalence of 4% in 24 red deer, and 40% in 60 roe deer. The low prevalence in red deer could be due to the decrease with time of toxoplasmic antibodies. In an experimental study with farmed red deer, Williamson *et al.* (1980) showed that inoculation resulted in tissue cysts formation and antibody response, followed by titer decreased suggesting that the parasite might be quickly eliminated in red deer.

None tissue cyst was found in 309 examined red deers, in 117 roe deers and in 8 fallow deers from the Czech Republic (Hejlíček *et al.*, 1997). The present study demonstrates

that *T.gondii* can be isolated from naturally infected roe and red deers. Viable *T.gondii* was demonstrated in tissues of red deer in New Zealand (Collins, 1981) and roe deer in West Germany (Entzeroth *et al.*, 1981). The prevalence of *Toxoplasma* isolation from seropositive deers (*Odocoileus virginianus*) in Lindsay *et al.* (1991) (66%, 4/6) was comparable with the study of Dubey *et al.* (2004) (61.7%, 21/34). All isolates from white-tailed deer [Lindsay *et al.*, 1991 analysed by Howe and Sibley (1995)] or the 21 strains isolated by Dubey *et al.* (2004) were type II. All isolates from deers in this study were also type II. Thus, only type II lineage has been isolated from deer so far.

Few data are available from fallow deer. In Czech Republic, Hejlíček *et al.* (1997) showed the presence of antibodies against *T. gondii* in all the three animals analysed but failed to isolate *T.gondii* from fallow deer as in the present study. More recently, Bartova *et al.* (2007) found a lower prevalence (16.8%, n=143). With MAT at 1:25, 24% of the 79 fallow deer had antibodies to *T.gondii* (Gauss *et al.*, 2006) in Spain.

We observed similar seroprevalence of *T.gondii* infection in mouflon (16%, n=31) compared to Gauss *et al.* (2006) in Spain (14.8%, n=27) and Hejlíček *et al.* (1997) in Czech Republic (10%, n=20). Moreover, viable parasites were recovered from 1 of the 4 seropositive mouflons analysed (for the 3 another samples, all the mice died from bacterial infection).

Consumption of infected meat from cervids was identified as a source of *T.gondii* infection for humans (Sacks *et al.*, 1983; McDonald *et al.*, 1990; Ross *et al.*, 2001) as well as evisceration and handling of game may represent risks for human infection (Dubey, 1994).

The brown hare (*Lepus europaeus*) is a common species of wild mammals in Europe where they are extensively hunted. They are supposed to be a highly susceptible species to primary infection caused by *Toxoplasma gondii*. They demonstrate a high incidence of acute fatal toxoplasmosis with a very low prevalence of latent, i.e. subclinical infections (Gustafsson and Uggla, 1994). This observation is supported by studies describing clinical toxoplasmosis in hares (Gustafsson *et al.*, 1988) and reports of low seroprevalence and parasitological prevalence of *T. gondii* in their populations (Edelhofer *et al.*, 1989, Gustafsson *et al.*, 1994). However, other studies have reported a high seroprevalence and parasitological prevalence of toxoplasmosis in hares without any clinical signs of the disease or increased death rates (Catár, 1972; Hejlíček *et al.*, 1997). In this latter study, Hejlíček *et al.* report a parasitological prevalence of 4% in *Lepus europaeus* (6 of 164). We detected *Toxoplasma gondii* antibodies in only 9% of sera from brown hares but failed to isolate viable parasites. *Toxoplasma gondii* was isolated from 1 of the 2 seropositive common mallards (*Anas platyrhynchos*). A previous report of isolation of *T.gondii* from common mallards by Literak *et al.* (1992) recovered the parasite from 22 of the 184 mallards analysed (12%). Interestingly, Bartova *et al.* (2004) reported that *Anas platyrhynchos* infected with *Toxoplasma gondii* oocysts were relatively susceptible to *T.gondii* infection with 100% of the parasite detected in hearts by bioassay in mice (versus 91% in brain).

The prevalence of antibodies against *T.gondii* varied considerably between the different species examined (from 4 to 74%). This may be due to species difference in diet or behaviour and susceptibility to infection (Oksanen *et al.*, 1996). Another explanation could be the differences in occurrence of oocysts in habitats of the species. The latter is linked to the presence of felids, which is mainly represented by the domestic cat (*Felis domesticus*) in France. Afonso (2007) showed that infection level in cats (*Felis domesticus* but also European wildcat *Felis silvestris*) can varied with the landscape composition and climatic parameters. One red deer with an agglutination titer lower than 1:25 carried viable *Toxoplasma* cysts. This was also the case with 11 wild boars (Richomme *et al.*, 2009). These results raise the question of the choice of the cut-off when interpreting a serological test, especially in wildlife when using results from tests developed for domestic species.

Genotyping of the 24 isolates revealed that all belonged to type II lineage. These results are in agreement with the observed genotype of animal strains in France. All the

strains isolated from domestic (sheep, n=8; Dumètre *et al.*, 2006) or wildlife species (tawny owl, n=1, Aubert *et al.*, 2008 and wild boars, n=21, Richomme *et al.*, 2009) were avirulent for mice and were from type II.

These results underline that wildlife species may serve as an important reservoir for transmission of *T. gondii*. In France, cat domestication and farming exist since between one to two thousand years, and the distance between farms, considered as reservoirs of *Toxoplasma* oocysts (Lehmann *et al.*, 2003) rarely exceed 10 kms. In such conditions, it is not surprising that strains present in wildlife may not be different from strains present in the domestic environment. A genetic population structure study with more microsatellite markers would be interesting to analyze gene flow between domestic and wildlife isolates and to conclude about possible gene exchanges between these populations.

Acknowledgments

We thank hunters from Champagne-Ardennes, especially H. Bertrand, from Corsica, especially O. Maestrini, and J. Burnet from Caroux-Espinouse massif for their help in obtaining samples. We thank R. Geers, N. Ortis and E. Dupuis for helpful technical assistance.

References

- Afonso E., 2007. Etude de la dynamique de la transmission de *Toxoplasma gondii* dans les milieux contrastés, PhD Thesis, Lyon University, 272p.
- Ajzenberg, D., Yera, H., Marty, P., Paris, L., Dalle, F., Menotti, J., Aubert, D., Franck, J., Bessières, M.H., Quinio, D., Pelloux, H., Delhaes, L., Desbois, N., Thulliez, P., Robert-Gangneux, F., Kauffmann-Lacroix, C., Pujol, S., Rabodonirina, M., Bougnoux, M.E., Cuisenier, B., Duhamel, C., Duong, T.H., Filisetti, D., Flori, P., Gay-Andrieu, F., Pratlong, F., Nevez, G., Totet, A., Carme, B., Bonnabau, H., Dardé, M.L., Villena I., 2009. Genotype of 88 *Toxoplasma gondii* isolates associated with toxoplasmosis in immunocompromised patients and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.* 199, 1155-1167.
- Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, M.H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P., Dardé, M.L., 2002. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.* 186, 684-689.
- Ajzenberg, D., Dumètre, A., Dardé, M.L., 2005. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 43, 1940-1943.
- Aubert, D., Terrier, M.E., Dumètre, A., Barrat, J., Villena, I., 2008. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in some raptors from France. *J. Wildl. Dis.* 44, 172-173.
- Bartova, E., Dvorakova, H., Barta, J., Sedlak, K., Literak, I., 2004. Susceptibility of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) to experimental infection with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Avian Pathol.* 33, 153-157.
- Bartova, E., Sedlak, K., Pavlik, I., Literak, I., 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in wild ruminants from the countryside or captivity in the Czech Republic. *J. Parasitol.* 93, 1216-1218.
- Buxton, D., Maley, S.W., Pastoret P.P., Brochier B., Innes EA., 1997. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Rec.* 141, 308-309.
- Catar, G., 1972. Studies on toxoplasmosis as regards its natural focality in Slovakia. *Folia parasitol. (Prague)* 19, 253-256.
- Collins, G.H., 1981. Studies in sarcocystis species. VIII: *Sarcocystis* and *Toxoplasma* in red deer (*Cervus elaphus*). *N. Z. Vet. J.* 29, 126-127.
- De Lalla, F., Bechelli, G., Cavallini-Sampieri, L., 1967. Osservazioni sierologiche e parassitologiche sulla diffusione della toxoplasmosi nelle volpi dell'area di Siena. *La clinica Veterinaria* 90, 393-400.
- Demar, M., Ajzenberg, D., Serrurier, B., Dardé, M.L., Carme, B., 2008. Atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78, 195-197.
- Dubey, J.P., 1994. Toxoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 205, 1593-1598.

- Dubey, J.P., Beattie, C.P., 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, Boca Raton, Florida. 220 pp.
- Dubey, J.P., Desmonts, G., 1987. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Equine Vet. J. 19, 337-339.
- Dubey, J.P., Graham, D.H., De Young, R.W., Dahl, E., Eberhard, M.L., Nace, E.K., Won, K., Bishop, H., Punkosdy, G., Sreekumar, C., Vianna, M.C., Shen, S.K., Kwok, O.C., Sumners, J.A., Demarais, S., Humphreys, J.G., Lehmann, T., 2004. Molecular and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. J. Parasitol. 90, 67-71.
- Dubey, J.P., Graham, D.H., Blackston, C.R., Lehmann, T., Gennari, S.M., Ragozo, A.M., Nishi, S.M., Shen, S.K., Kwok, O.C., Hill, D.E., Thulliez, P., 2002. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: unexpected findings. Int. J. Parasitol. 32, 99-105.
- Dubey, J.P., López-Torres, H.Y., Sundar, N., Velmurugan, G.V., Ajzenberg, D., Kwok, O.C., Hill, R., Dardé, M.L., Su, C., 2007. Mouse-virulent *Toxoplasma gondii* isolated from feral cats on Mona Island, Puerto Rico. J. Parasitol. 93, 1365-1369.
- Dubey, J.P., Storandt, S.T., Kwok, O.C., Thulliez, P., Kazacos, K.R., 1999. *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed wild coyotes, red foxes, and gray foxes and serologic diagnosis of Toxoplasmosis in red foxes fed *T. gondii* oocysts and tissue cysts. J. Parasitol. 85, 240-243.
- Dumètre, A., Ajzenberg, D., Rozette, L., Mercier, A., Dardé, M.L., 2006. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. Vet. Parasitol. 142, 376-379.
- Edelhofer, R., Hepp-Winger, E.M., Hassl, A., Aspöck, H., 1989. *Toxoplasma*-Infektionen bei jagdbaren Wildtieren in Ostösterreich. Mitteilungen der Österreichische Gesellschaft für Tropenmedizinische Parasitologie 11, 119-123.
- Entzeroth, R., Piekarski, G., Scholtyseck, E., 1981. Fine structural study of a *Toxoplasma* strain from the roe deer. Z. Parasitenkd. 66, 109-112.
- Gamarra, J.A., Cabezón, O., Pabón, M., Arnal, M.C., Luco, D.F., Dubey, J.P., Gortázar, C., Almeria, S., 2008. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in roe deer from Spain. Vet. Parasitol. 153, 152-156.
- Gauss, C.B., Dubey, J.P., Vidal, D., Cabezón, O., Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Marco, I., Lavin, S., Gortazar, C., Almeria, S., 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in red deer (*Cervus elaphus*) and other wild ruminants from Spain. Vet. Parasitol. 136, 193-200.
- Grigg, M.E., Bonnefoy, S., Hehl, A.B., Suzuki Y., Boothroyd, J.C., 2001. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. Science 294, 161-165.
- Gustafsson, K., Uggla, A., 1994. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* infection in the brown hare (*Lepus europaeus* P.) in Sweden. J. Wildl. Dis. 30, 201-204.
- Gustafsson, K., Uggla, A., Svensson, T., Sjolund, L., 1988. Detection of *Toxoplasma gondii* in liver tissue sections from brown hares (*Lepus europaeus* P.) and mountain hares (*Lepus timidus* L.) using the peroxidase anti-peroxidase (PAP) technique as a complement to conventional histopathology. Zentralbl. Veterinarmed B. 35, 402-407.
- Hamilton, C.M., Gray, R., Wright, S.E., Gangadharan, B., Laurenson, K., Innes, E.A., 2005. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from around the UK. Vet. Parasitol. 130, 169-173.
- Hejlíček, K., Literák, I., Nezval, J., 1997. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. J. Wildl. Dis. 33, 480-485.
- Howe, D.K., Sibley, L.D., 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J. Infect. Dis. 172, 1561-1566.
- Jakubek, E.B., Brojer, C., Regnersen, C., Uggla, A., Schares, G., Bjorkman, C., 2001. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Swedish red foxes (*Vulpes vulpes*). Vet. Parasitol. 102, 167-172.
- Jakubek, E.B., Farkas, R., Pálfi, V., Mattsson, J.G., 2007. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Hungarian red foxes (*Vulpes vulpes*). Vet. Parasitol. 144, 39-44.

- Jensen, L., Petersen, E., Henriksen, S.A., Dietz, H.H., Lind, P., 1998. Monoclonal antibodies to *Toxoplasma gondii* strain 119 identify recently isolated Danish strains as one group. *Int. J. Parasitol.* 28, 1305-1313.
- Kapperud, G., 1978. Survey for toxoplasmosis in wild and domestic animals from Norway and Sweden. *J. Wildl. Dis.* 14, 157-162.
- Lehmann, T., Graham, D.H., Dahl, E., Sreekumar, C., Launer, F., Corn, J.L., Gamble, H.R., Dubey, J.P., 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect. Genet. Evol.* 3, 135-141.
- Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., Dubey, J.P., Mason, W.H., 1991. Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from white-tailed deer in Alabama. *J. Parasitol.* 77, 62-64.
- Literak, I., Hejlícek, K., Nezvaal, J., Folk, C., 1992. Incidence of *Toxoplasma gondii* in populations of wild birds in the Czech Republic. *Avian pathol.* 21, 659-665.
- Losson, B.J., Focant, C., Brochier, B., Chalon, P., Meerschman, F.D., 1999. Age-related seroprevalence to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Belgium. In: Proceedings of the 17th International Conference of the WAAVP, Copenhagen, Denmark, c.6.53.
- McDonald, J.C., Gyorkos, T.W., Alberton, B., MacLean, J.D., Richer, G., Juranek, D., 1990. An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec. *J. Infect. Dis.* 161, 769-774.
- Oksanen, A., Gustafsson, K., Lunden, A., Dubey, J.P., Thulliez, P., Uggla, A., 1996. Experimental *Toxoplasma gondii* infection leading to fatal enteritis in reindeer (*Rangifer tarandus*). *J. Parasitol.* 82, 843-845.
- Richomme, C., Aubert, D., Gilot, E., Ajzenberg, D., Mercier, A., Ducrot, C., Ferté, H., Delorme, D., Villena I., 2009. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Vet. Parasitol.*, *in press*.
- Ross, R.D., Stec, L.A., Werner, J.C., Blumenkranz, M.S., Glazer, L., Williams, G.A., 2001. Presumed acquired ocular toxoplasmosis in deer hunters. *Retina* 21, 226-229.
- Sacks, J.J., Delgado, D.G., Lobel, H.O., Parker, R.L., 1983. Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. *Am. J. Epidemiol.* 118, 832-838.
- Sibley, L.D., Boothroyd, J.C., 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature* 359, 82-85.
- Smith, D.D., Frenkel, J.K., 1995. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. *J. Wildl. Dis.* 31, 15-21.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217-1258.
- Vanek, J.A., Dubey, J.P., Thulliez, P., Riggs, M.R., Stromberg, B.E., 1996. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in hunter-killed white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in four regions of Minnesota. *J. Parasitol.* 82, 41-44.
- Vikoren, T., Tharaldsen, J., Fredriksen, B., Handeland, K., 2004. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild red deer, roe deer, moose, and reindeer from Norway. *Vet. Parasitol.* 120, 159-169.
- Villena, I., Aubert, D., Gomis, P., Ferte, H., Inglard, J.C., Denis-Bisiaux, H., Dondon, J.M., Pisano, E., Ortis, N., Pinon, J.M., 2004. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4035-4039.
- Williamson, J.M., Williams, H., Sharman, G.A., 1980. Toxoplasmosis in farmed red deer (*Cervus elaphus*) in Scotland. *Res. Vet. Sci.* 29, 36-40.
- Wolfe, A., Hogan, S., Maguire, D., Fitzpatrick, C., Vaughan, L., Wall, D., Hayden, T.J., Mulcahy, G., 2001. Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Vet. Rec.* 149, 759-763.
- Zarnke, R.L., Dubey, J.P., Kwok, O.C., Ver Hoef, J.M., 2000. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in selected wildlife species from Alaska. *J. Wildl. Dis.* 36, 219-224.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A -

- Abaigar, T., del Barrio, G., J.R., V., 1994. Habitat preferences of wild boar (*Sus scrofa* L. 1758) in a Mediterranean environment. Indirect evaluation by signs. *Mammalia*. 58, 201-210.
- Acevedo, P., Vicente, J., Hölfe, U., Cassinello, J., Ruiz-Fons, F., Gortazar, C., 2007. Estimation of European wild boar relative abundance and aggregation: a novel method in epidemiological risk assessment. *Epidemiol. Infect.* 135, 519-527.
- AFNOR, 2003. FD X 50-551 : Recommandations pour l'organisation et la réalisation d'une activité de recherche en mode projet notamment dans le cadre d'un réseau Ed. Afnor, Second référentiel officiel français dans le domaine de la qualité en recherche.
- Afonso, E., 2007. Etude de la dynamique de la transmission de *Toxoplasma gondii* dans les milieux contrastés. Doctorat: Reims, France. Université de Champagne Ardennes, 272 pp.
- AFSSA, 2005. Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation - Rapport du groupe de travail *Toxoplasma gondii* de l'Agence Française de Sécurité des Aliments.
- Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, M.H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P., Dardé, M.L., 2002. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.* 186, 684-689.
- Akkoc, N., Kuruuzum, Z., Akar, S., Yuçe, A., Onen, F., Yapar, N., Ozgenc, O., Turk, M., Ozdemir, D., Avci, M., Guruz, Y., Oral, A.M., Pozio, E., 2009. A large-scale outbreak of trichinellosis caused by *Trichinella britovi* in Turkey. *Zoonoses Public Health*. 56, 65-70.
- Allix-Béguec, C., Walravens, K., Saegerman, C., Godfroid, J., Supply, P., Fauville-Dufaux, M., 2007. MIRU-VNTR: outil de typage moléculaire performant pour l'épidémiologie de la tuberculose bovine. Xèmes Journées de Mycobactériologie en langue française, Lyon.
- Anonymous, 2007. Bilan du rapport annuel ruminants 2005. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, note de service DGAL/SDSPA/N2007-8027: 3-6. On line: <http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/dgaln20078027z-2.pdf>.
- Aranaz, A., de Juan, L., Montero, N., Sanchez, C., Galka, M., Delso, C., Alvarez, J., Romero, B., Bezos, J., Vela, A.I., Briones, V., Mateos, A., Dominguez, L., 2004. Bovine Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Wildlife in Spain. *J. Clin. Microbiol.* 42, 2602-2608.
- Artois, M., Caron, A., Leighton, F.A., Bunn, C., Vallat, B., 2006. La faune sauvage et les maladies émergentes. *Rev. Sci. Tech. OIE*. 25, 897-912.
- Artois, M., Delahay, R., Guberti, V., Cheeseman, C., 2001. Control of Infectious Diseases of Wildlife in Europe. *The Veterinary Journal*. 162, 141-152.
- Artois, M., Fromont, E., Hars, J., 2003. La faune sauvage, indicateur possible du risque de maladie émergente ? *Epidémiol. et santé anim.* 44, 21-31.
- Artois, M., Loukiadis, E., Garin-Bastuji, B., Thorel, M.F., J., H., 2004. Infection des mammifères sauvages par *Mycobacterium bovis*, risque de transmission aux bovins domestiques. *Bull. Epidémiol. Hebd.* 13, 1-3.
- Ashford, R.W., 2003. When is a reservoir not a reservoir? *Emerg. Infect. Dis.* 9, 1495-1496.
- Atanassova, V., Apelt, J., Reich, F., Klein, G., 2008. Microbiological quality of freshly shot game in Germany. *Meat Science*. 78, 414-419.
- Atterby, H., Learmount, J., Conyers, C., Zimmer, I., Boonham, N., Taylor, M., 2009. Development of a real-time PCR assay for the detection of *Trichinella spiralis* in situ. *Veterinary Parasitology*. 161, 92-98.

- Aubert, D., Terrier, M., Dumètre, A., Barrat, J., Villena, I., 2008. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in raptors from France. *J. Wildl. Dis.* 44, 172-173.
- Aurtenetxe, O., Barral, M., Vicente, J., de la Fuente, J., Gortazar, C., Juste, R., 2008. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against *Mycobacterium bovis* in european wild boar. *BMC Vet.Res.* 4, 43.
- B -
- Bártová, E., Sedlák, K., Literák, I., 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 142, 150-153.
- Baubet, E., 1998. Biologie du sanglier en montagne : biodémographie, occupation de l'espace et régime alimentaire. Doctorat: Lyon, France. University de Lyon, 281 pp.
- Baubet, E., Servanty, S., Brandt, S., Toïgo, C., Klein, F., 2004. Améliorer la connaissance du fonctionnement démographique des populations de sanglier : vers une meilleure gestion de l'espèce *Sus scrofa*. ONCFS, Rapport Scientifique 2004. p. 30-33.
- Beck, R., Mihaljevic, Z., Marinculic, A., 2005. Comparison of trichinelloscopy with a digestion method for the detection of *Trichinella* larvae in muscle tissue from naturally infected pigs with low level infections. *Vet. Parasitol.* 132, 97-100.
- Benet, J.J., 2006. La tuberculose. Polycopié ENVA. Unité pédagogique de maladies contagieuses, 106pp.
- Bengis, R.G., Kock, R.A., Fischer, J., 2002. Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. *Rev Sci Tech. OIE.* 21, 53-65.
- Bensaid, T., Bonnefoi-Kyriacou, B., Dupel-Pottier, C., Bellon, O., Lagier, E., Chardon, H., 2003. Méningite à *Streptococcus suis* après une chasse au sanglier. *Presse Méd.* 32, 1077-1078.
- Berger, F., Goulet, V., Le Strat, Y., de Valk, H., Désenclos, J.C., 2007. La toxoplasmose en France chez la femme enceinte en 2003 : séroprévalence et facteurs associés. Institut de veille sanitaire.
- Berger, F., Goulet, V., Le Strat, Y., Desenclos, J.-C., 2008. Toxoplasmose chez les femmes enceintes en France : évolution de la séroprévalence et de l'incidence et facteurs associés, 1995-2003. *Bull. Epidémiol. Hebd.* 14-15, 117-121.
- Bertolini, R., Zgrablic, G., Cuffolo, E., 2005. Wild game meat: products, market, legislation and processing controls. *Vet. Res. Communications.* 29, 97-100.
- Biet, F., Boschioli, M.L., Thorel, M.F., Guilloteau, L.A., 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC). *Vet. Res.* 36, 411-436.
- Biteau-Coroller, F., 2006. Surveillance et évaluation du risque de transmission des maladies vectorielles émergentes : apport de la capacité vectorielle. Exemple de la fièvre catarrhale du mouton. Doctorat Epidemiologie: Montpellier, France. Université Montpellier II, 238 pp.
- Boireau, P., Vallée, I., Roman, T., Perret, C., Mingyuan, L., Gamble, H.R., Gajadhar, A., 2000. *Trichinella* in horses: a low frequency infection with high human risk. *Review. Vet. Parasitol.* 93, 309-320.
- Böhm, M., White, P.C.L., Chambers, J., Smith, L., Hutchings, M.R., 2007. Wild deer as a source of infection for livestock and humans in the UK. *Vet. J.* 174, 260-276.
- Bollo, E., Ferroglio, E., Dini, V., Mignone, W., Biolatti, B., Rossi, L., 2000. Detection of *Mycobacterium tuberculosis complex* in lymph nodes of wild boar (*Sus scrofa*) by a target-amplified test system. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 47, 337-342.
- Boothroyd, J.C., Grigg, M.E., 2002. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? *Curr. Opin. Microbiol.* 5, 438-442.

- Boué, F., Hars, J., Le Potier, M.F., Mesplede, A., Garin-Bastuji, B., Boireau, P., Toma, B., Pacholek, X. (2001) : Bilan du programme national 2000/2001 de surveillance sérologique des sangliers sauvages (Peste porcine classique, Maladie d'Aujeszky, Brucellose, Trichinellose). Rapport ONCFS/DGAI. 83 p.
- Boué, F., Hars, J., Le Potier, M.F., Kuntz-Simon, G., Mesplede, A., Garin-Bastuji, B., Boireau, P., Barrat, J., Louguet, Y., Pacholek, X. (2004). Bilan du programme national 2003/2004 de surveillance sérologique des sangliers sauvages (Peste porcine classique, Maladie d'Aujeszky, Brucellose, Trichinellose). Rapport ONCFS/DGAI. 43 p.
- Bouloire, J.-L., Vassant, J., 1989. Le sanglier. Editions Hatier, Paris., 228 pp.
- Brandt, S., Baubet, E., Vassant, J., Servanty, S., 2006. Régime alimentaire du sanglier en milieu forestier de plaine agricole. Faune Sauvage. 273, 20-27.
- Brandt, S., Said, S., Baubet, E., 2005. La chasse en battue modifie l'utilisation de l'espace par le sanglier : quelles conséquences pour sa gestion ? Faune Sauvage. 266, 12-17.
- Brosch, R., Gordon, S.V., Marmiesse, M., Brodin, P., Buchrieser, C., Eiglmeier, K., Garnier, T., Gutierrez, C., Hewinson, G., Kremer, K., Parsons, L.M., Pym, A.S., Samper, S., van Soolingen, D., Cole, S.T., 2002. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. P.N.A.S. 99, 3684-3689.
- Brown, C., 2004. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance - an overview. Rev. Sci. Tech. OIE. 23, 435-442.
- Bugalho, M.N., Milne, J.A., 2003. The composition of the diet of red deer (*Cervus elaphus*) in a Mediterranean environment: a case of summer nutritional constraint? Forest Ecol. Manag. 181, 23-29.
- C -
- Calavas, D., 1998. Ecopathologie des animaux d'élevage. Principes, démarches, implications. Doctorat: Lyon, France. Université Lyon 1, 299 pp.
- Casabianca, F., 1996. Viandes et Produits de charcuterie. In: Albin Michel (Ed), Corse, Produits du terroir et recettes traditionnelles. Conseil National des Arts Culinaires, Inventaire du patrimoine culinaire de la France, Paris, 335 pp.
- Catar, G., 1972. Studies on toxoplasmosis as regards its natural focality in Slovakia. Folia Parasitol. Prague. 19, 253-256.
- Chevassus-au-louis, B., 2002. L'analyse du risque alimentaire. Vers de nouvelles pratiques. Atala (Cercle de réflexion Universitaire du Lycée Chateaubriand, Rennes). 5, 153-178.
- Choi, W.Y., Nam, H.W., Kwak, N.H., Huh, W., Kim, Y.R., Kang, M.W., Cho, S.Y., Dubey, J.P., 1997. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 175, 1280-1282.
- Coleman, J., Cooke, M., 2001. *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. Tuberculosis. 81, 191-202.
- Collectif, 2004. La gestion du sanglier. Des pistes et des outils pour réduire les populations. DER Cnera Cervidés-sanglier, ONCFS, St Benoist, 29 pp.
- Cook, A.J., Gilbert, R.E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P.A., Foulon, W., Semprini, A.E., Dunn, D.T., 2000. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on congenital toxoplasmosis. Brit. Med. J. 321, 142-147.
- Coroller, F., 2002. Aspects sanitaires de la réglementation française concernant la faune sauvage. Doctorat Vétérinaire: Lyon, France. 142 pp.
- Cotteleer, C., Fameree, L., 1982. Eimeriidae and helminths of pig and wild boar in Belgium. Incidence of anti toxoplasmic antibodies. Schweizer Archiv fur Tierheilkunde. 124, 37-47.

- Cuzick, J., Edwards, R., 1990. Spatial clustering for inhomogeneous populations. *J. Roy. Stat. Soc. B Met.* 52, 73-104.
- D -
- Dalla Bernardina, S., 2009. Le gibier de l'apocalypse, Chasse et théorie du complot. *Ethnologie française - P.U.F.* 39 89-99.
- Daszak, P., Cunningham, A.A., 1999. Extinction by infection. *Trends in Ecology & Evolution.* 14, 279-279.
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. *Science.* 287, 443-449.
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica.* 78, 103-116.
- De Bruyne, A., Ancelle, T., Vallee, I., Boireau, P., Dupouy-Camet, J., 2006. Human trichinellosis acquired from wild boar meat: a continuing parasitic risk in France. *Euro Surveill.* 11(37), pii=3048. Online: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/060914.asp#060915>.
- de Deus, N., Peralta, B., Pina, S., Allepuz, A., Mateu, E., Vidal, D., Ruiz-Fons, F., Martín, M., Gortázar, C., Segalés, J., 2008. Epidemiological study of hepatitis E virus infection in European wild boars (*Sus scrofa*) in Spain. *Vet. Microbiol.* 129, 163-170.
- de la Rua-Domenech, R., 2006. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis.* 86, 77-109.
- de Lisle, G.W., 1994. Mycobacterial infections in pigs. *Surveillance.* 21, 23-25.
- de Lisle, G.W., Bengis, E.G., Schmitt, S.M., O'Brien, D.J., 2002. Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Rev. Sci. Tech. OIE.* 21.
- Delahay, R.J., De Leeuw, A.N.S., Barlow, A.M., Clifton-Hadley, R.S., Cheeseman, C.L., 2002. The Status of *Mycobacterium bovis* Infection in UK Wild Mammals: A Review. *Vet. J.* 164, 90-105.
- Delcroix, I., Signoret, J.P., Mauget, R., 1985. L'élevage en commun des jeunes au sein du groupe social chez le sanglier. *Journées rech. porcine en France.* 17, 167-174.
- Despommier, D.D., Gwadz, R.W., Hotez, J., Knirsch, A., 2005. *Parasitic Diseases Apple Trees Productions, LLC, New York, 363 pp.*
- Dhondt, C., 2005. Les zoonoses transmises à partir du cerf (*Cervus elaphus*), du chevreuil (*Capreolus capreolus*), du sanglier (*Sus scrofa*) et du renard (*Vulpes vulpes*) en France métropolitaine. Doctorat Vétérinaire: Maisons Alfort, France.
- Diderrich, V., New, J.C., Noblet, G.P., Patton, S., 1996. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in free-ranging wild hogs (*Sus scrofa*) from the Great Smoky Mountains National Park and from sites in South Carolina. *J. Eukaryot. Microbiol.* 43, 122S.
- Doran, R.J., Laffan, S.W., 2005. Simulating the spatial dynamics of foot and mouth disease outbreaks in feral pigs and livestock in Queensland, Australia, using a susceptible-infected-recovered cellular automata model. *Prev. Vet. Med.* 70, 133-152.
- Dubey, J.P., Beattie, C.P., 1988. *Toxoplasmosis of animals and man.* CRC Press, Boca Raton, Florida, 220 pp.
- Dubey, J.P., Thulliez, P., Weigel, R.M., Andrews, C.D., Lind, P., Powell, E.C., 1995. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma-Gondii* infection in naturally infected sows. *Am. J. Vet. Res.* 56, 1030-1036.
- Dubey, J.P., 1997. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-208C. *J. Parasitol.* 83, 946-949.

- Dubey, J.P., Rollor, E.A., Smith, K., Kwok, O.C., Thulliez, P., 1997. Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. *J. Parasitol.* 83, 839-841.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Speer, C.A., 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 267-299.
- Dubey, J.P., Graham, D.H., De Young, R.W., Dahl, E., Eberhard, M.L., Nace, E.K., Won, K., Bishop, H., Punksody, G., Sreekumar, C., Vianna, M., Shen, S.K., Kwok, O.C., Summers, J.A., Demarais, S., Humphreys, J.G., Lehmann, T., 2004a. Molecular and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in the United States. *J. Parasitol.* 90, 67-71.
- Dubey, J.P., Parnell, P.G., Sreekumar, C., Vianna, M.C., De Young, R.W., Dahl, E., Lehmann, T., 2004b. Biologic and molecular characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from striped skunk (*Mephitis mephitis*), Canada goose (*Branta canadensis*), black-winged lory (*Eos cyanogenia*), and cats (*Felis catus*). *J. Parasitol.* 90, 1171-1174.
- Dubey, J.P., In Press. Toxoplasmosis in pigs - The last 20 years. *Vet. Parasitol.* Corrected Proof.
- Dubuc, M., 2004. Animal disease surveillance in Québec. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, July 11-16, 2004.
- Duffield, B.J., Young, D.A., 1985. Survival of *Mycobacterium bovis* in defined environmental conditions. *Vet. Microbiol.* 10, 193-197.
- Dufour, B., Hendriks, P., 2007. Surveillance épidémiologique en santé animale. Ed. Quae, co-ed. Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales (AEEMA); Paris, 2e édition. 295pp.
- Dumètre, A., Ajzenberg, D., Rozette, L., Mercier, A., Dardé, M.L., 2006. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Vet. Parasitol.* 142, 376-379.
- Dunn, D.T., Wallon, M., Peyron, F., Pertersen, E., Peckham, C., Gilbert, R., 1999. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet.* 353, 1829-1833.
- Dupouy Camet, J., 1996. La trichinellose : une zoonose toujours d'actualité. *L'Eurobiologiste.* 30, 23-24.
- Dupouy Camet, J., Ancelle, T., Fourestié, V., Boireau, P., Soulé, C., 1998. Trichinelloses *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8-517-A-10, 11p.
- E -
- Edelhofer, R., Prosl, H., Kutzer, E., 1996. Trichinellose und toxoplasmose in Wildschwein aus Ost-Österreich. *Wiener tierärztliche Monatsschrift.* 83, 225-229.
- EFSA, 2006. Review of the Community Summary, Report on Zoonoses. *EFSA Journal.* 403, 1-62.
- European Economic Community, 2005. Regulation (EC) No 2075/2005 of the European Parliament and of the Council of 5 December 2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. *Off. J. EC. L 338*, 60-82.
- Euzeby, J., 1994. Une vieille anthroponose toujours actuelle : la trichinose. *Rev. Méd. Vét.* 145, 795-818.
- F -
- Falchi, A., Arena, C., Andreoletti, L., Jacques, J., Leveque, N., Blanchon, T., Lina, B., Turbelin, C., Dorléans, Y., Flahault, A., Amoros, J.P., Spadoni, G., Agostini, F., Varesi, L., 2008. Dual infections by influenza A/H3N2 and B viruses and by influenza A/H3N2 and A/H1N1 viruses during winter 2007, Corsica Island, France. *J. Clin. Virol.* 41, 148-151.

- Falchi, A., Varesi, L., Arena, C., Leveque, N., Renois, F., Blanchon, T., Amoros, J.P., Andreoletti, L., 2009. Co-circulation of two genetically distinct sub-groups of A/H3N2 *influenza* strains during the 2006-2007 epidemic season in Corsica Island, France. *J. Clin. Virol.* 45, 265-268.
- Field, H.E., 2008. Investigating Infectious Disease Emergence from Wildlife - A Transdisciplinary Approach. *Int. J. Infect. Dis.* 12, e139-e139.
- Filippova, E., 2008. La Corse : une voix à part dans le concert français ? *Ethnologie française* - PUF. 38 – 2008/3 : Corse, tous terrains, 397-405.
- Focardi, S., Isotti, R., Tinelli, A., 2002. Line transect estimates of ungulate populations in a Mediterranean forest. *J. Wildlife manage.* 66, 48-58.
- Fosse, J., Seegers, H., Magras, C., 2008. Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. *Vet. Res.* 39, 1.
- Franceschi, P.F., 1980. Essai de caractérisation génétique du porc corse. Aspects cytogénétiques et polymorphisme biochimique. Doctorat: Paris, France. Université Paris VI, 57 pp.
- Franceschi, P., 1984. Quelques caractéristiques de la population de sangliers de Corse et analyses de ses échanges avec le porc domestique. *ONC, Bulletin mensuel.* 85, 27.
- Frenkel, J.K., Ruiz, A., Chinchilla, M., 1975. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 24, 439-443.
- Frey, C.F., Schuppers, M.E., Nöckler, K., Marinculić, A., Pozio, E., Kihm, U., Gottstein, B., 2009 Validation of a Western Blot for the detection of anti-Trichinella spp. antibodies in domestic pigs. *Parasitol. Res.* Epub ahead of print.
- G -
- Gaillard, J.M., Pontier, D., Brandt, S., Jullien, J.M., Allainé, D., 1992. Sex differentiation in postnatal growth rate: a test in a wild boar population. *Oecologia* 90, 167-171.
- Gajadhar, A.A., Pozio, E., Ray Gamble, H., Nöckler, K., Maddox-Hyttel, C., Forbes, L.B., Vallée, I., Rossi, P., Marinculic, A., Boireau, P., 2009. *Trichinella* diagnostics and control: Mandatory and best practices for ensuring food safety. *Vet. Parasitol.* 159, 197-205.
- Gallardo, M.T., Mateos, L., Artieda, J., Wesslen, L., Ruiz, C., García, M.A., Galmés-Truyols, A., Martin, A., Hernández-Pezzi, G., Andersson, Y., Gárate, T., Christensson, D., 2007. Outbreak of trichinellosis in Spain and Sweden due to consumption of wild boar meat contaminated with *Trichinella britovi*. *Euro Surveill.* 12(11), pii=3154. Online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3154>
- Gamble, H.R., Anderson, W.R., Graham, C.E., Murrell, K.D., 1983. Diagnosis of swine trichinosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory- secretory antigen. *Vet. Parasitol.* 13, 349-361.
- Gamble, H.R., Bessonov, A.S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A.A., van Knapen, F., Noeckler, K., Schenone, H., Zhu, X., 2000. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 93, 393-408.
- Gamito-Santos, J.A., Gómez, L., Calero-Bernal, R., Rol-Díaz, J.A., González-Ruibal, L., Gómez-Blázquez, M., Pérez-Martín, J.E., 2009. Histopathology of trichinellosis in wild boar. *Vet. Parasitol.* Corrected Proof.
- Garin-Bastuji, B., Hars, J., Calvez, D., Thiébaud, M., Artois, M., 2000. Brucellose du porc domestique et du sanglier sauvage due à *Brucella suis biovar 2* en France. *Epidémiol. et santé anim.* 38, 1-5.
- Gari-Toussaint, M., Tieulié, N., Baldin, J., Dupouy-Camet, J., Delaunay, P., Fuzibet, J., Le Fichoux, Y., Pozio, E., Marty, P., 2006. Human trichinellosis due to *Trichinella britovi* in southern France after

- consumption of frozen wild boar meat. Euro Surveill. 10, 117-118. Online: <http://www.eurosurveillance.org/em/v110n106/1006-1226.asp>
- Garin-Bastuji, B., Cau, C., Boué, F., Terrier, M.-E., Hars, J., 2004. Utilisation comparée du sérum, du poumon et du muscle pour le dépistage de la brucellose chez les sangliers. *Epidémiologie et Santé animale (Revue de l'AEEMA)* 45, 13-23.
- Garin-Bastuji, B., Vaillant, V., Albert, D., Tourrand, B., Danjean, M.P., Lagier, A., Rispal, P., Benquet, B., Maurin, M., De Valk, H., Mailles, A., 2006. Is brucellosis due the biovar 2 of *Brucella suis* an emerging zoonosis in France? Two case reports in wild boar and hare hunters. International Society of Chemotherapy Disease Management Meeting, 1st International Meeting on Treatment of Human Brucellosis, 7-10 novembre 2006, Ioannina, Grèce.
- Gauss, C.B., Dubey, J.P., Vidal, D., Ruiz, F., Vicente, J., Marco, I., Lavin, S., Gortazar, C., Almeria, S., 2005. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Vet. Parasitol.* 131, 151-156.
- Gill, J.S., Webby, R., Gilchrist, M.J., Gray, G.C., 2006. Avian influenza among waterfowl hunters and wildlife professionals. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 1284-1286.
- Godard, O., 2001. Le principe de précaution entre débats et gestion des crises. Ecole Polytechnique - CNRS : Laboratoire d'Econométrie Cahier n° 2001-010. 17p., online <http://ceco.polytechnique.fr/CAHIERS/pdf/2001-2010.pdf>.
- Goris, N., Praet, N., Sammin, D., Yadin, H., Paton, D., Brocchi, E., Berkvens, D., De Clercq, K., 2007. Foot-and-mouth disease non-structural protein serology in cattle: Use of a Bayesian framework to estimate diagnostic sensitivity and specificity of six ELISA tests and true prevalence in the field. *Vaccine.* 25, 7177-7196.
- Gortazar, C., Vicente, J., Gavier-Widen, D., 2003. Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar. *Vet. Rec.* 152, 779-780.
- Gortazar, C., Torres, M.J., Vicente, J., Acevedo, P., Reglero, M., de la Fuente, J., Negro, J.J., Aznar-Martín, J., 2008. Bovine tuberculosis in Doñana biosphere reserve: the role of wild ungulates as disease reservoirs in the last Iberian Lynx strongholds. *PLoS ONE.* 3, e2776.
- Gottstein, B., Pozio, E., Connolly, B., Gamble, H.R., Eckert, J., Jakob, H.-P., 1997. Epidemiological investigation of trichinellosis in Switzerland. *Vet. Parasitol.* 72, 201-207.
- Grigg, M.E., Bonnefoy, S., Hehl, A.B., Suzuki, Y., Boothroyd, J.C., 2001. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science.* 294, 161-165.
- H -
- Haddad, N., Ostry, A., Karoui, C., Masselot, M., Thorel, M.F., Hughes, S.L., Inwald, J., Hewinson, R.G., Durand, B., 2001. Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *J. Clin. Microbiol.* 39, 3623-3632.
- Halos, L., Thébault, A., Aubert, D., Thomas, M., Perret, C., Geers, R., Alliot, A., Escotte-Binet, S., Ajzenberg, D., Dardé, M.-L., Durand, B., Boireau, P., Villena, I., 2009. An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. *Int. J. Parasitol.* In Press, Uncorrected Proof.
- Hars, J., 2000. Evaluation du risque de transmission de maladies entre suidés sauvages et domestiques - Résultats de l'enquête nationale sur les élevages de porcs en plein air. ONCFS, Rapport, 11pp.
- Hars, J., Albina, E., Artois, M., Boireau, P., Crucière, C., Garin, B., Gauthier, D., Hathier, C., Lamarque, F., Mesplède, A., Rossi, S., 2000. Epidémiologie des maladies du sanglier transmissibles aux animaux domestiques et à l'Homme. *Epidémiol. et santé anim.* 37, 31-43.

- Hars, J., Thorel, M.F., Boschioli, M.L., Belli, P., Vardon, J., Desrus, D., Gouraud-Bouyer, S., Pinede, S., Coquatrix, E., Ferme, M., Garin-Bastuji, B., 2003. Programme de surveillance de la tuberculose sur les ongulés sauvages de la forêt de Brotonne (départements de la Seine Maritime et de l'Eure) - Rapport final de l'enquête menée en 2001-2002.
- Hars, J., Boschioli, M.L., Belli, P., Vardon, J., Coquatrix, E., Garin-Bastuji, B., Thorel, M.F., 2004a. Découverte du premier foyer de tuberculose sur les ongulés sauvages en France. *Faune Sauvage*. 261, 29-34.
- Hars, J., Thiebaud, M., Cau, C., Rossi, S., Baubet, E., Boue, F., Garin-Bastuji, B., 2004b. La brucellose du sanglier et du lièvre due à *Brucella suis* 2 en France. *Faune Sauvage*. 261, 18-23.
- Hars, J., Boschioli, M.L., Duvauchelle, A., Garin-Bastuji, B., 2006. La tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez le cerf et le sanglier en France. Emergence et risque pour l'élevage bovin. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*. 159, 393-403.
- Hars, J., Boschioli, M.L., Duvauchelle, A., Zanella, G., Garin-Bastuji, B., 2007a. Emergence de la tuberculose bovine chez le cerf et le sanglier en France. Risque pour l'élevage bovin. *Bull. Groupements Tech. Vet.*, 2007. 40, 27-31
- Hars, J., Rossi, S., Boue, F., Garin-Bastuji, B., Le Potier, M.-F., Boireau, P., Aubry, P., Hattenberger, A.-M., Louguet, Y., Toma, B. 2007b. Programme national de surveillance sérologique des sangliers sauvages (Peste porcine classique, Maladie d'Aujeszky, Brucellose, Trichinellose) : rapport final de l'enquête sérologique 2000-2004. In ONCFS/ DGAL, Rapport (Rapport ONCFS/ DGAL).
- Hars, J., Rossi, S., Garin-Bastuji, B., Le Potier, M.F., Boireau, P., Hattenberger, A.M., Aubry, P., Louguet, Y., Toma, B., Boue, F., 2008. Le risque sanitaire lié au sanglier sauvage en France. ONCFS, Rapport scientifique 2007. p. 59-65.
- Haydon, D.T., Cleaveland, S., Taylor, L.H., Laurenson, M.K., 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 1468-1473.
- Hejlícek, K., Literak, I., Nezval, J., 1997. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *J. Wildl. Dis.* 33, 480-485.
- Hénault, S., Karoui, C., Boschioli, M.L., 2006. A PCR-based method for tuberculosis detection in wildlife. *Dev. Biol.* 126, 123-132.
- Hendriks, P., 2000. Importance de la communication dans les réseaux d'épidémiologie en Afrique intertropicale. Journées scientifiques de l'association pour l'étude de l'épidémiologie des maladies animales, Paris, France, 19 mai 2000.
- Hendriks, P., Dufour, B., 2004. Méthode d'élaboration des indicateurs de performance des réseaux de surveillance épidémiologique des maladies animales. *Epidémiol. et santé anim.* 46, 71-85.
- Holt, R.D., Dobson, A.P., Begon, M., Bowers, R.G., Schaub, E.M., 2003. Parasite establishment in host communities. *Ecol. Lett.* 6, 837-842.
- Howe, D.K., Sibley, L.D., 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J. Infect. Dis.* 172, 1561-1566.
- Howe, D.K., Honore, S., Derouin, F., Sibley, L.D., 1997. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1411-1414.
- Hugas, M., Tsigarida, E., Robinson, T., Calistri, P., In Press. The EFSA Scientific Panel on Biological Hazards first mandate: May 2003-May 2006. Insight into foodborne zoonoses. *Trends Food Sci. Technol.* Accepted Manuscript.
- Hyman, J.A., Johnson, L.K., Tsai, M.M., O'Leary, T.J., 1995 Specificity of polymerase chain reaction identification of *Toxoplasma gondii* infection in paraffin-embedded animal tissues. *J Vet Diagn Invest.* 7, 275-278.

- J -

Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P., 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 451, 990-993.

Jost, C.C., Mariner, J.C., Roeder, P.L., Sawitri, E., Macgregor-Skinner, G.J., 2007. Participatory epidemiology in disease surveillance and research. *Rev Sci Tech. OIE*. 26, 537-547.

- K -

Käferstein, F., Abdussalam, M., 1999. Food safety in the 21st century. *Bull. World Health Organ*. 77, 347-351.

Kamerbeek, J., Schouls, L., Kolk, A., van Agterveld, M., van Soolingen, D., Kuijper, S., Bunschoten, A., Molhuizen, H., Shaw, R., Goyal, M., van Embden, J., 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol*. 35, 907-914.

Kaneene, J.B., Thoen, C.O., 2004. Tuberculosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 224, 685-691.

Kapel, C.M.O., Gamble, H.R., 2000. Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in experimentally infected pigs. *Int. J. Parasitol*. 30, 215-221.

Kapel, C.M., 2001. Sylvatic and domestic *Trichinella* spp. in wild boars; infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response. *J. Parasitol*. 87, 309-314.

Kapel, C.M.O., Webster, P., Gamble, H.R., 2005. Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals wildlife. *Vet. Parasitol*. 132, 101-105.

Keller, A., 2008. Mise en place d'un système de suivi sanitaire de la faune sauvage dans le Parc National de Souss-Massa (Maroc). Doctorat Vétérinaire: Lyon, France. 134 pp.

Kidjo, N., Feracci, G., Bideau, E., Gonzalez, G., Marchand, B., Aulagnier, S., 2006. Extinction and reintroduction of the Corsican red deer in Corsica. First European congress of conservation biology "Diversity for Europe", Eger, Hungary, 22-26 August 2006.

Kijlstra, A., Eissen, O.A., Cornelissen, J., Munnikma, K., Eijck, I., Kortbeek, T., 2004. *Toxoplasma gondii* Infection in Animal-Friendly Pig Production Systems. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 45, 3165-3169.

King, L.J., Marano, N., Hughes, J.M., 2004. New partnerships between animal health services and public health agencies. *Rev Sci Tech. OIE*. 23, 717-725.

Klein, F., Baubet, E., Toigo, C., Leduc, D., Saint-Andrieux, C., Saïd, S., Fréchar, C., Vallance, M., 2007. La gestion du sanglier: des pistes et des outils pour réduire les populations. Brochure ONCFS, série Technique et Faune sauvage. 29 p.

Kruse, H., Kirkemo, A.-M., Handeland, K., , 2004. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg. Infect. Dis*. 10, 2067-2072.

Kuiken, T., Leighton, F.A., Fouchier, R.A.M., LeDuc, J.W., Peiris, J.S.M., Schudel, A., Stohr, K., Osterhaus, A.D.M.E., 2005. Public health: Pathogen surveillance in animals. *Science*. 309, 1680-1681.

- L -

Laddomada, A., 2000. Incidence and control of CSF in wild boar in Europe. *Vet. Microbiol*. 73, 121-130.

Lamarque, F., Hatier, C., Artois, M., Berny, P., Diedler, C., 2000. Le réseau SAGIR, réseau national de suivi sanitaire de la faune sauvage française. *Epidémiol. et santé anim*. 37, 21-30.

Lambert-Derkimba, 2007. Inscription des races locales dans les conditions de production des produits animaux sous APC : enjeux et conséquences pour la gestion collective des races mobilisées Doctorat Zootechnie système d'élevage et gestion des ressources génétiques: Paris, France. AgroParistech/ INRA SAD, 284 pp.

- Lancia, R.A., Nichols, J.D., Pollock, K.H., 1994. Estimating the number of animals in wildlife populations. In: The Wildlife Society. Bethesda, M., USA (Ed), Research and management techniques for wildlife and habitats. 215-253 pp.
- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., Lowden, S., Finlayson, H., Brand, T., Willerslev, E., Rowley-Conwy, P., Andersson, L., Cooper, A., 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*. 307, 1618-1621.
- Lecostumier, A.C., 1994. Epidémiologie de tularémie en France, modes de transmission inhabituels, recrudescence en 1993 de la tularémie humaine. *Bull. Epidémiol. Hebd.* 42, 195-197.
- Lehmann, T., D.H., G., Dah, I.E., Sreekumar, C., Launer, F., Corn, J.L., Gamble, H.R., Dubey, J.P., 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect. Genet. Evol.* 3, 135-141.
- Losson, B., Protz, M., Brochier, B., Evers, J., Patigny, X., 1995. La trichinellose chez le sanglier (*Sus scrofa*) : résultats obtenus en 1993-1994 par trichinoscopie, digestion à la pepsine chlorhydrique et technique immunoenzymatique. *Ann. Méd. Vét.* 139, 277-281.
- Lutz, W., 1997. Serologischer Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* und *Leptospira* bei Schwarzwild. *Z. Jagdwiss.* 43, 283-287.
- M -
- Machackova, M., Matlova, L., Lamka, J., Smolik, J., Melicharek, I., Hanzlikova, M., Docekal, J., Cvetnic, Z., Nagy, G., Lipiec, M., M. Ocepek, Pavlik, I., 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 and 2001. *Vet. Med. (Prague)* 48, 51-57.
- MacPherson, J.M., Gajadhar, A.A., 1993. Sensitive and specific polymerase chain reaction detection of *Toxoplasma gondii* for veterinary and medical diagnosis. *Can. J. Vet. Res.* . 57, 45-48.
- Macpherson, C.N.L., 2005. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 35, 1319-1331.
- Madary, J., 2007. "Caccia corsa" - premiers cartouches pour un système géographique d'épidémiosurveillance en région Corse : l'entrée par la battue au sanglier. Master SIG et Gestion de l'espace: Saint-Etienne, France. Université de Saint-Etienne, 76 pp.
- Maeder, S., Hars, J., Rambaud, T., Game, Y., Boschioli, M.L., 2008. Rôle du sanglier (*Sus scrofa*) dans l'épidémiologie de la tuberculose dans la forêt de Brotonne (France). Résultats de l'enquête épidémiologique 2006-2007. *Epidémiologie et Santé animale*. 53, 129-144
- Magras, C., Poignet, B., Laroche, M., 2008. Statut de contamination au stade "unité de vente vonsmommateur" de viande de biche sauvage pour 3 indicateurs bactériens. *Viande et produits carnés*. 12°J.S.M.T.V., 8-9 octobre 2008, Tours, 213-214.
- Maillard, D., 1996. Occupation et utilisation de la garrigue et du vignoble méditerranéen par les sangliers (*Sus scrofa L.*). Doctorat: Marseille, France. Université Aix-Marseille III, 235 pp.
- Mainar-Jaime, R.C., Barberán, M., 2007. Evaluation of the diagnostic accuracy of the modified agglutination test (MAT) and an indirect ELISA for the detection of serum antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep through Bayesian approaches. *Vet. Parasitol.* 148, 122-129.
- Malakauskas, A., Kapel, C.M., Webster, P., 2001 Infectivity, persistence and serological response of nine *Trichinella* genotypes in rats. *Parasite*. 8, S216-222.
- Mansuy, J.M., Peron, J.M., Abravanel, F., Poirson, H., Dubois, M., Miedouge, M., al., e., 2004. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J. Med. Virol.* 74, 419-424.

- Mariner, J.C., Paskin, R., 2000. Manual of participatory epidemiology. Methods for collection of action-oriented epidemiological intelligence. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Animal Health Manual n°10, FAO, Rome.
- Massei, G., Genov, P.V., Staines, B., Gorman, M.L., 1997. Factors influencing home range and activity of wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean coastal area. *J. Zool., Lond.* 242 411-423.
- Mathews, F., Joanne, P.W., 2009. Chapter 8 Zoonoses in Wildlife: Integrating Ecology into Management. In, *Advances in Parasitology*. Academic Press, 185-209 pp.
- Mayer, J., ovak, J.M., Brisbin, I.L., 1998. Evaluation of molar size as a basis for distinguishing wild boar from domestic swine: employing the present to decipher the past. In: Nelson, M.A.S.C.f.A. (Ed), *Ancestors for the Pigs*. UPenn Museum of Archaeology, 39-53 pp.
- Médard, A., L'Hostis, M., Leray, G., Marchandeu, S., Pascal, M., Roudot, N., al., e., 2000 Inventory of wild rodents and lagomorphs as natural hosts of *Fasciola hepatica* on a farm located in a humid area in Loire-Atlantique (France). *Parasite* 7 77-82.
- Medina-Lerena, M., Ramirez-Álvarez, A., Kühne, M., Gómez-Priego, A., de-la-Rosa, J.L., 2009. Influence of different processing procedures on the reproductive capacity of *Trichinella spiralis* in pork meat. *Trop. Anim. Health Pro.* 41, 437-442.
- Mele, A., Paterson, P.J., Prentice, H.G., Leoni, P., Kibbler, C.C., 2002. Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* . 29, 691-698.
- Meyer, R., Knudsen, R., 2001. Foot and mouth disease: a review of the virus and the symptoms. *J. Environ. Health.* 64, 21-23.
- Mignone, W., Dini, V., Ganduglia, S., Poggi, M., 1992. La tuberculose du sanglier en Ligurie. *BIPAS-GEEFSM.* 8, 101-104.
- Mignone, W., Ballardini, M., Sanguinetti, V., Bollo, E., Dini, V., 1997. La tuberculosi dei cinghiali (*Sus scrofa*) a vita libera in Liguria: Primi isolamenti di micobatteri e prtocollo di monitoraggio. *BIPAS- GEEFSM.* 16, 79-84.
- Mills, J., Childs, J., 1998. Ecologic studies of rodent reservoirs: their relevance for human health. *Emerg. Infect. Dis.* 4, 529-537.
- Mintiens, K., Verloo, D., Venot, E., Laevens, H., Dufey, J., Dewulf, J., Boelaert, F., Kerkhofs, P., Koenen, F., 2005. Estimating the probability of freedom of classical swine fever virus of the East-Belgium wild-boar population. *Prev. Vet. Med.* 70, 211-222.
- Möhl, K., Große, K., Hamedy, A., Wüste, T., Kabelitz, P., Lücker, E., 2009. Biology of *Alaria spp.* and human exposition risk to *Alaria mesocercariae* - a review. *Parasitol. Res.* 105.
- Møller, L.N., Petersen, E., Gamble, H.R., Kapel, C.M.O., 2005. Comparison of two antigens for demonstration of *Trichinella spp.* antibodies in blood and muscle fluid of foxes, pigs and wild boars. *Vet. Parasitol.* 132, 81-84.
- Morner, T., Obendorf, D.L., Artois, M., Woodford, M.H., 2002. Surveillance and monitoring of wildlife diseases. *Rev Sci Tech. OIE.* 21, 67-76.
- Morris, R.S., Pfeiffer, D.U., Jackson, R., 1994. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Vet. Microbiol.* 40, 153-177.
- Moutou, F., 2000. Epidémiologie et faune sauvage en Europe : introduction aux Journées de l'AEEMA, 18-19 mai 2000. *Epidémiol. et santé anim.* 37, 1-8.

- N -

- Naranjo, V., Gortazar, C., Vicente, J., De la Fuente, J., 2008. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Vet. Microbiol.* 127, 1-9.
- Neill, S.D., Hanna, J., O'Brien, J.J., McCracken, R.M., 1989. Transmission of tuberculosis from experimentally infected cattle to in-contact calves. *Vet. Rec.* 124, 269-271.
- Nishi, J.S., Shury, T., Elkin, B.T., 2006. Wildlife reservoirs for bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Canada: Strategies for management and research. *Vet. Microbiol.* 112, 325-338.
- Nöckler, K., Pally, R., Dedek, J., Voigt, W.P., Miko, A., Schuster, R., 1999. Investigations on *Trichinella* prevalence in wild boars in Mecklenburg-Vorpommern using indirect ELISA and digestion method. Tagungsband der DVG, Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten", Thema: Neuere Methoden und Ergebnisse zur Epidemiologie von Parasitosen, Hannover, 10-12/03/1999 102-112.
- Nugent, G., Whitford, J., Young, N., 2002. Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis*. *J. Wildl. Dis.* 38, 665-677.
- Nugent, G., 2004. Role of wild deer in the NZ Tb problem. Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association: 1st World Deer Veterinary Congress. 115-118.

- O -

- O'Brien, R., Flynn, O., Costello, E., O'Grady, D., M., R., 2000 Identification of a novel DNA probe for strain typing *Mycobacterium bovis* by restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1723-1730.
- O'Brien, D.J., Schmitt, S.M., Fierke, J.S., Hogle, S.A., Winterstein, S.R., Cooley, T.M., Moritz, W.E., Diegel, K.L., Fitzgerald, S.D., Berry, D.E., Kaneene, J.B., 2002. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995-2000. *Prev. Vet. Med.* 54, 47-63.
- O'Reilly, L.M., Daborn, C.J., 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tuber. Lung Dis.* 76, 1-46.
- OIE, 2004. Situation épidémiologique des maladies des animaux sauvages. *Santé animale mondiale.* 14p. On line: ftp://ftp.oie.int/SAM/2004/FAUNE_F.pdf.
- Oliver, W.R.L., 1995. IUCN-SSC. Taxonomy and conservation status of the suiformes - an overview. *Journal of Mountain Ecology IBEX.* 3, 3-5.
- OMS, 2001. Protocol for the assessment of national communicable disease surveillance and response systems, Guidelines for assessment teams. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 122 pp.

- P -

- Palmer, S., Soulsby, L., Simpson, D.I.H., 1998. *Zoonoses : Biology, clinical practice and public health control.* Oxford university press, 785 pp.
- Parra, A., Fernández-Llario, P., Tatoc, A., Larrasa, J., Garcia, A., Alonso, J.M., Hermoso de Mendoza, M., 2003. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections of pigs and wild boars using a molecular approach. *Vet. Microbiol.* 97, 123-133.
- Parra, A., Larrasa, J., Garcia-Sanchez, A., Alonso, J.M., Hermoso de Mendoza, J., 2005. Molecular epidemiology of bovine tuberculosis in wild animals in Spain: A first approach to risk factor analysis. *Vet. Microbiol.* 110, 293-300.
- Pastoureau, M., 2009. Le Cochon. Histoire d'un cousin mal aimé. Gallimard, collection Découvertes (numéro 544), 160 p.
- Pavlik, I., 2006. The experience of new European Union Member States concerning the control of bovine tuberculosis. *Vet. Microbiol.* 112, 221-230.

Références bibliographiques

- Payeur, J.B., Church, S., Mosher, L., Robinson-Dunn, B., Schmitt, S., Whipple, D., 2002. Bovine Tuberculosis in Michigan Wildlife. *Ann. NY Acad. Scis.* 969, 259-261.
- Perez-Martin, J.E., Serrano, F.J., Reina, D., Mora, J.A., Navarrete, I., 2000. Sylvatic Trichinellosis in SouthWestern Spain. *J. Wildl. Dis.* 36, 531-534.
- Phillips, C.J.C., Foster, C.R.W., Morris, P.A., Teverson, R., 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Res. Vet. Science.* 74, 1-15.
- Pietri, C., 1986. Le sanglier en Haute-Corse. Résultats de l'enquête prélèvement 1986. Rapport de stage C.S.TC.: Fédérations des Chasseurs de Haute-Corse.
- Pinna, W., Nieddu, G., Moniello, Cappai, M.G., 2007. Vegetable and animal food sorts found in the gastric content of Sardinian Wild Boar (*Sus scrofa meridionalis*). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91, 252-255.
- Pita, R., Mira, A., Moreira, F., Morgado, R., Beja, P., 2009. Influence of landscape characteristics on carnivore diversity and abundance in Mediterranean farmland. *Agricult. Ecosys. Environ.* 132, 57-65.
- PNRC, 1995. La chasse en Corse, Simonpoli Paul Edition. Parc Naturel Régional de Corse, Ajaccio, 600 pp.
- Poplin, F., 1979. Origine du Mouflon de Corse dans une nouvelle perspective paléontologique : par marronnage. *Genet. Sel. Evol.* 11, 133-143
- Pozio, E., La Rosa, G., Darwin Murrel, K., 1992. Taxonomic révision of the genus *Trichinella*. *J. Parasitol.* 78, 654-659.
- Pozio, E., Casulli, A., Bologov, V.V., Marucci, G., La Rosa, G., 2001a. Hunting practices increase the prevalence of *Trichinella* infection in wolves from European Russia. *J. Parasitol.* 87, 1498-1501.
- Pozio, E., La Rosa, G., Gomez Morales, M.A., 2001b. Epidemiology of human and animal trichinellosis in Italy since its discovery in 1887. *Parasite.* 8, S106-S108.
- Pozio, E., La Rosa, G., 2003. PCR-derived methods for the identification of *Trichinella* parasites from animal and human samples. *Methods Mol. Biol.* 216, 299-309.
- Pozio, E., Gomez Morales, M.A., Dupouy Camet, J., 2003. Clinical aspects, diagnosis and treatment of trichinellosis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 1, 471-482.
- Pozio, E., Zarlenga, D.S., 2005. Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Int. J. Parasitol.* 35, 1191-1204.
- Pozio, E., Murrell, D.K., 2006. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Ad. Parasit.* 63, 367-439.
- Pozio, E., Kapel, C.M., Gajadhar, A.A., Boireau, P., Dupouy-Camet, J., Gamble, H.R., 2006a. *Trichinella* in pork: current knowledge on the suitability of freezing as a public health measure. *Euro Surveill.* 11, E061116.061111. On line: <http://www.eurosurveillance.org/ew/062006/061116.asp#061111>
- Pozio, E., Mesina, P., Sechi, F., Pira, M., Liciardi, M., Cossu, P., Marucci, G., Garippa, G., Firinu, A., 2006b. Human outbreak of trichinellosis in the Mediterranean island of Sardinia, Italy. *Vet. Parasitol.* 140, 177-180.
- Pozio, E., Cossu, P., Marucci, G., Amati, M., Ludovisi, A., Morales, M.A.G., La Rosa, G., Firinu, T., 2009a. The birth of a *Trichinella britovi* focus on the Mediterranean island of Sardinia (Italy). *Vet. Parasitol.* 159, 361-363.
- Pozio, E., Rinaldi, L., Marucci, G., Musella, V., Galati, F., Cringoli, G., Boireau, P., La Rosa, G., 2009b. Hosts and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe. *Int. J. Parasitol.* 39, 71-79.

- R -

- R Development Core Team, 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing, <http://www.R-project.org>.
- Randi, E., 1995. Conservation genetics of the genus *Sus*. Journal of Mountain Ecology IBEX. 3, 6-12.
- Rastogi, N., Legrand, E., Sola, C., 2001. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. Rev. Sci. Tech. OIE. 20, 21-54.
- Renou, C., Cadranet, J.F., Bourlière, M., Halfon, P., Ouzan, D., Rifflet, H., Carencio, P., Harafa, A., Bertrand, J.J., Boutrouille, A., Muller, P., Igual, J.P., Decoppet, A., Eloit, M., Pavio, N. 2007. Possible zoonotic transmission of hepatitis E from pet pig to its owner. Emerg. Infect. Dis. 13(7), 1094-1096.
- Richomme, C., Gauthier, D., Fromont, E., 2006 Contact rates and exposure to inter-species disease transmission in mountain ungulates. Epidemiol.Infect. 134, 21-30.
- Richomme, C., Casabianca, F., Maestrini, O., Boireau, P., 2007. Trichinellosis and extensive farming system: an eco-epidemiological approach of the sanitary situation in insular area of Corsica. 6th International Symposium on the Mediterranean Pig, Capo d'Orlando, 11-13 october 2007, Sicilia.
- Robert, J., Boulahbal, F., Trystram, D., Truffot-Pernot, C., Benoist, A.C., Vincent, V., Jarlier, V., Grosset, J., 1999. A national survey of human *Mycobacterium bovis* infection in France. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 3, 711-714.
- Rocourt, J., 1996. Coûts des infections bactériennes transmises par les aliments dans les pays industrialisés. ASEPT, Laval.
- Rodriguez, J.M., 1997. Detection of animal pathogens by using the polymerase chain reaction (PCR). Vet. J. 153, 287-305.
- Rodriguez de las Parras, E., Rodriguez-Ferrer, M., Nieto-Martinez, J., Ubeira, F.M., Garate-Ormaechea, T., 2004 Trichinellosis outbreaks in Spain (1990-2001). Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 22, 70-76.
- Rosenthal, B.M., LaRosa, G., Zarlenga, D., Dunams, D., Chunyu, Y., Mingyuan, L., Pozio, E., 2008. Human dispersal of *Trichinella spiralis* in domesticated pigs. Infect. Genet. Evol. 8, 799-805.
- Rossi, S., 2005. Le sanglier (*Sus scrofa sp.*) réservoir d'infections : analyse du risque de transmission de la peste porcine classique et de la brucellose porcine à *B. suis biovar 2*. Doctorat: Lyon, France. Université Claude Bernard - Lyon 1, 187 pp.
- Rossi, S., Hars, J., Garin-Bastuji, B., Le Potier, M.-F., Boireau, P., Aubry, P., Hattenberger, A.-M., Louguet, Y., Toma, B., Boué, F., 2008. Résultats de l'enquête nationale sérologique menée chez le sanglier sauvage (2000-2004). Bulletin épidémiologique AFSSA/DGAI. 29, 5-7.
- Roumier, M., Milhe, P., Hautefort, B., Benoist, B., 1992. Quatre cas de trichinose en Camargue par consommation de viande de sanglier. Méd. Mal. Infect. 22, 947-948.
- Roy, C.J., Milton, D.K., 2004. Airborne transmission of communicable infection- the elusive pathway. N. Engl. J. Med. 350, 1710-1712.
- Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Vidal, D., Höfle, U., Villanúa, D., Gauss, C., Segalés, J., Almería, S., Montoro, V., Gortázar, C., 2006. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: The effect on wild boar female reproductive performance. Theriogenology. 65, 731-743.

- S -

- Saint-Andrieux, C., Barboiron, A., 2009. Tableaux de Chasse cerf- chevreuil- sanglier. Saison 2007-2008. Faune Sauvage. 283, 4 p., encart central.

- Sauvage, F., Pontier, D., 2005. Intérêt des modèles déterministes et stochastiques en épidémiologie des maladies infectieuses : exemple du Hantavirus Puumala. *Epidémiol. et santé anim.* 47, 63-82.
- Savey, M., Dufour, B., 2004. Diversité des zoonoses. Définitions et conséquences pour la surveillance et la lutte. *Epidémiol. et santé anim.* 46, 1-16.
- Schlundt, J., 2002. New directions in foodborne disease prevention. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 3-17.
- Schmitt, S.M., Fitzgerald, S.D., Cooley, T.M., Bruning-Fann, C.S., Sullivan, L., Berry, D., Carlson, T., Minnis, R.B., Payeur, J.B., Sikarskie, J., 1997. Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. *J. Wildl. Dis.* 33, 749-758.
- Segales, J., Vicente, J., Lujan, L., Toussaint, M.J.M., Gruys, E., Gortazar, C., 2005. Systemic AA-amyloidosis in a European wild boar (*Sus scrofa*) suffering from generalized tuberculosis. *Journal Veterinary Medicine. A* 52, 135-137.
- Serraino, A., Marchetti, G., Sanguinetti, V., Rossi, M.C., Zanoni, R.G., Catozzi, L., Bandera, A., Dini, W., Mignone, W., Franzetti, F., Gori, A., 1999. Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2766-2771.
- Servanty, S., Gaillard, J.-M., Allainé, D., Brandt, S., Baubet, E., 2007. Litter size and fetal sex ratio adjustment in a highly polytocous species: the wild boar. *Behav. Ecol.* 18, 427-432.
- Sibley, L.D., Boothroyd, J.C., 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature.* 359, 82-85.
- Skuce, R.A., McDowell, S.W., Mallon, T.R., Luke, B., Breadon, E.L., Lagan, P.L., McCormick, C.M., McBride, S.H., Pollock, J.M., 2005. Discrimination of isolates of *Mycobacterium bovis* in Northern Ireland on the basis of variable numbers of tandem repeats (VNTRs). *Vet. Rec.* 157, 501-504.
- Sleeman, J., 2006. Wildlife Zoonoses for the Veterinary Practitioner. *Journal of Exotic Pet Medicine.* 15, 25-32.
- Smith, H.J., Anzengruber, A., DuPlessis, D.M., 1976. Current status of trichinosis in swine in the Atlantic provinces. *Can. Vet. J.* 17, 72-75.
- Soulé, C., Dupouy-Camet, J., 1991. La trichinellose: une zoonose en évolution Paris, France: CNEVA/OIE, 292 pp.
- Stull, J.W., Carr, A.P., Chomel, B.B., Berghaus, R.D., Hird, D.W., 2007. Small animal deworming protocols, client education, and veterinarian perception of zoonotic parasites in western Canada. *Can. Vet. J.* 48, 269-276.
- Sweitzer, R.A., van Vuren, D., Gardner, I.A., Boyce, W.M., Waithman, J.D., 2000. Estimating sizes of wild pig populations in the north and central coast regions of California. *J. Wildlife manage.* 64, 531-543.
- T -
- Tamada, Y., Yano, K., Yatsunami, H., Inoue, O., Mawatari, F., Ishibashi, H., 2004. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J. Hepatol.* 40, 869-870.
- Taylor, L.H., Latham, S.M., Woolhouse, M.E., 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 356, 983-989.
- Tei, S., Kitajima, N., Takahashi, K., Mishiro, S., 2003. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 362, 371-373.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217-1258.

Références bibliographiques

- Teunis, P.F.M., Fonville, M.T.M., Döpfer, D.D.V., Eijck, I.A.J.M., Molina, V., Guarnera, E., van der Giessen, J.W.B., 2009. Usefulness of sero-surveillance for *Trichinella* infections in animal populations. *Vet. Parasitol.* 159, 345-349.
- Toen, C., LoBue, P., de Kantor, I., 2006. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. *Vet. Microbiol.* 112, 339-345.
- Thorne, E.T., Williams, E.S., 1998. Disease and endangered species: the black-footed ferret as a recent example. *Conserv. Biol.* 2, 66-74.
- Todd, E.C.D., 1989. Costs of acute bacterial foodborne disease in Canada and the United States. *Int. J. Food Microbiol.* 9, 313-326.
- Toma, B., Dufour, B., Saana, M., Benet, J.J., Shaw, A., Moutou, F., Louza, A., 2001. *Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures*. Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales., Maisons-Alfort, 551 pp.
- Toma, B., Agier, C., Haddad, N., Boué, F., Terrier, M.-E., Hars, J., 2004. Utilisation comparée du sérum, du poumon et du muscle pour le dépistage de la maladie d'Aujeszky chez les sangliers. *Epidémiologie et Santé animale (Revue de l'AEEMA)* 45, 25-31.
- Tomavo, S., 2001. The differential expression of multiple isoenzyme forms during stage conversion of *Toxoplasma gondii*: an adaptive developmental strategy. *Int. J. Parasitol.* 31, 1023-1031.
- Tsiodras, S., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Bauchinger, U., Falagas, M.E., 2008. Human infections associated with wild birds. *J. Infection.* 56, 83-98.
- V -
- Vaillant, V., De Valk, H., Baron, E., 2004. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. Institut de Veille Sanitaire. On line: http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf_origine_alimentaire/inf_origine_alimentaire.pdf.
- Vaissaire, J., Mendy, C., Le Doujet, C., Le Coustumier, A., 2005. La Tularémie. La maladie et son épidémiologie en France. *Méd. Mal. Infect.* 35, 273-280.
- Vallée, I., Macé, P., Forbes, L., Scandrett, B., Durand, B., Gajadhar, A., Boireau, P., 2007. Use of proficiency samples to assess diagnostic laboratories in France performing a *Trichinella* digestion assay. *J. Food Protect.* 70, 1685-1690.
- Valleron, A.-J., Schwartz, D., Goldberg, M., Salamon, R., Collectif, 2006. *L'épidémiologie humaine : Conditions de son développement en France, et rôle des mathématiques*. Ed. EDP Sciences, Publication Broché, 424 pp.
- van der Giessen, J.W.B., Rombout, Y., Van der Veen, A., Pozio, E., 2001. Diagnosis and Epidemiology of *Trichinella* infections in wildlife in the Netherlands. *Parasite.* 8, 103-105.
- Van Oirschot, J.T., 1999. Classical swine fever. In : Shaw B.E. et al., eds. *Diseases Of Swine*. 8th Edition. Ames: Iowa State University Press: pp. 159-172.
- Van Riper III, C., Van Riper, S.G., Goff, M.L., Laird, M., 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. *Ecol. Monogr.* 56 327-344.
- Vicente, J., Hofle, U., Garrido, J.M., Fernandez-De-Mera, I.G., Juste, R., Barral, M., Gortazar, C., 2006. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Vet. Res.* 37, 1-11.
- W -
- Wards, B.J., Collins, D.M., de Lisle, G.W., 1995. Detection of *Mycobacterium bovis* in tissues by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 43, 227-240.

Références bibliographiques

- Wedlock, D.N., Skinner, M.A., de Lisle, G.W., Buddle, B.M., 2002. Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations. *Microbes Infect.* 4, 471-480.
- Weigel, R.M., Dubey, J.P., Siegel, A.M., Kitron, U.D., Mannelli, A., Mitchell, M.A., Mateus-Pinilla, N.E., Thulliez, P., Shen, S.K., Kwok, O.C., 1995. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *J. Parasitol.* 81, 736-741.
- WHO, 2003. Hazard characterization for pathogens in food and water: guidelines. Microbiological Risk Assessment Series, No. 3. World Health Organization, Geneva, 76 pp.
- Wilkins, M.J., Bartlett, P.C., Frawley, B., O'Brien, D.J., Miller, C.E., Boulton, M.L., 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, 1001-1009.
- Wilkins, M.J., Meyerson, J., Bartlett, P.C., Spieldenner, S.L., Berry, D.E., Mosher, L.B., Kaneene, J.B., Robinson-Dunn, B., Stobierski, M.G., Boulton, M.L., 2008. Human *Mycobacterium bovis* infection and bovine tuberculosis outbreak, Michigan, 1994-2007. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 657-660.
- Wilkins, M.J., Bartlett, P.C., Judge, L.J., Erskine, R.J., Boulton, M.L., Kaneene, J.B., 2009. Veterinarian injuries associated with bovine TB testing livestock in Michigan, 2001. *Prev. Vet. Med.* 89, 185-190.
- Wobeser, G., 2002. Disease management strategies for wildlife. *Rev Sci Tech. OIE.* 21, 159-178.
- Worley, D.E., Seese, F.M., Zarlenga, D.S., Murrell, K.D., 1994. Attempts to eradicate trichinellosis from a wild boar population in a private game park (USA). In: W.C. Campbell, E. Pozio and F. Bruschi, Editors, *Trichinellosis*, Istituto Superiore di Sanita Press, Rome, pp. 611-616.
- Y -
- Young, J.S., Gormley, E., E.M., W., 2005. Molecular detection of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium bovis* BCG (Pasteur) in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1946-1952.
- Z -
- Zanella, G., 2007. Tuberculose bovine dans une population de cerfs et de sangliers sauvages : épidémiologie et modélisation. Doctorat Santé publique épidémiologie: Paris, France. Université Paris XI, 199 pp.
- Zanella, G., Durand, B., Hars, J., Moutou, F., Garin-Bastuji, B., Duvauchelle, A., Fermé, M., Karoui, C., Boschioli, M.L., 2008. *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases.* 44, 99-108.
- Zanetti, S., Bua, A., MoliCotti, P., Delogu, G., Mura, A., Ortu, S., Sechi, L.A., 2008. Identification of mycobacterial infections in wild boars in Northern Sardinia, Italy. *Acta Vet. Hung.* 56, 145-152.



Astérix en Corse, Goscinny & Uderzo

Epidémiologie de zoonoses du Sanglier (*Sus scrofa*) dans un milieu méditerranéen insulaire, la Corse

RÉSUMÉ

Cette thèse a pour objectif l'étude épidémiologique de zoonoses chez le sanglier en Corse afin d'éclairer l'analyse et la gestion du risque zoonotique. La première partie décrit la démarche d'analyse du risque et les données nécessaires à son estimation, met en évidence que le sanglier, porteur potentiel de nombreux agents pathogènes, est un modèle biologique intéressant pour le suivi de maladies transmissibles à l'Homme par ingestion ou manipulation de carcasses, et décrit le contexte d'étude, la Corse, notamment sur le plan cynégétique et de l'élevage. La seconde partie présente le dispositif mis en place pour la collecte des données, un réseau d'épidémiosurveillance active à l'échelle de la région insulaire, puis l'étude épidémiologique de trois agents zoonotiques (respectivement maladies): *Trichinella britovi* (trichinellose), *Toxoplasma gondii* (toxoplasmose) et *Mycobacterium bovis* (tuberculose bovine). A l'issue de nos travaux, le risque de trichinellose, avéré en 2004, demeure difficile à évaluer mais plausible, nécessitant le maintien des consignes de prévention (cuisson de la viande, test des carcasses commercialisées). Le risque de toxoplasmose est fort sur l'ensemble de l'île, et davantage encore dans les zones à forte densité d'exploitations agricoles. Le risque de tuberculose apparaît majeur à considérer, le bacille étant présent à la fois chez des sangliers et chez des porcs ou bovins de quatre régions corses. Nos travaux concluent en l'importance d'une meilleure gestion des carcasses et viscères d'animaux sauvages et domestiques, et la nécessité d'une coordination pérenne du dispositif mis en place pour le suivi des zoonoses en Corse.

MOTS-CLES : épidémiologie, facteurs de risque, zoonoses, *Trichinella britovi*, *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium bovis*, faune sauvage, gibier, sanglier.

Epidemiology of zoonosis in wild boar (*Sus scrofa*) from an insular Mediterranean area, Corsica

ABSTRACT

This thesis aimed to study the epidemiology of zoonosis in wild boar in Corsica and to provide new elements to analyse and manage the zoonotic risk. The first bibliographical part describes how to analyse a zoonotic risk and which data are needed to estimate it, highlights that wild boar is potentially carrier of numerous pathogens and is a good biological model to survey diseases transmitted to Humans by ingestion or carcass handling, and finally presents the hunting and breeding context in Corsica. The second part presents the active surveillance device built on the whole island to collect epidemiological data, and then the study of three zoonotic pathogens (respectively diseases): *Trichinella britovi* (trichinellosis), *Toxoplasma gondii* (toxoplasmosis) and *Mycobacterium bovis* (bovin tuberculosis). We firstly showed that, although an outbreak of trichinellosis was detected in 2004 in pigs and one fox, the risk is difficult to estimate nowadays due to difficulties in interpreting diagnostic tests in wildlife. However, the risk is still potential and preventive practices need to be maintained (cooking meat, systematic test of commercialised carcasses). Secondly, we show evidence of a strong risk of toxoplasmosis on the whole island, which is stronger in areas with high farm densities. Thirdly, the risk of tuberculosis appears a major one to consider, *M. bovis* of identical genotypes being found in wild boars, cattle, and pigs of the same areas. Finally, our work leads to suggest a better management of wild and domestic carcasses, and the need of a long-term coordination of the surveillance device built to study zoonosis and detect emerging diseases in Corsica.

KEY-WORDS: epidemiology, risk factors, zoonosis, *Trichinella britovi*, *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium bovis*, wildlife, wild game, wild boar.