



Bulletin épidémiologique

Santé animale - alimentation

Septembre 2015 trimestriel/numéro 70

Page 2

Tuberculose bovine en France : cartographie des souches de *Mycobacterium bovis* entre 2000-2013

Page 9

Situation épidémiologique vis-à-vis de la tuberculose des élevages de bovins dits « sauvages » de la zone Camargue : évolution depuis 2009 et bilan de l'utilisation du test de dépistage interféron

Page 14

La brucellose des bouquetins du massif du Bargy (Haute-Savoie) : où en est-on en 2015 ?

Page 19

Résabeilles : résultats de deux campagnes de surveillance programmée de la mortalité des abeilles en France

Page 24

Cas de leptospirose canine en Guadeloupe entre 2012 et 2015 : résultats d'une étude pilote

Page 28

Brève. Persistence de la peste porcine africaine en Europe de l'Est

Page 29

Brève. Modalités de détention de chauve-souris exotiques en France

Page 30

Collaborations sino-européennes en santé animale : le projet LinkTADs et autres activités menées par le Cirad

ÉDITORIAL

Dans ce numéro de rentrée, deux premiers articles sont consacrés à la tuberculose bovine, qui témoignent des recherches mises en œuvre d'une part pour évaluer les performances de modalités de surveillance alternatives à la tuberculination (protocole interféron gamma) quand celle-ci est difficile à mettre en œuvre, et d'autre part pour contribuer à mieux comprendre les déterminants de la situation épidémiologique. À ce propos, la biologie moléculaire, en caractérisant très finement les souches de *M. bovis*, constitue un outil précieux pour l'épidémiologie.

Deux ans après sa découverte, la brucellose continue à circuler dans la population des bouquetins du massif du Bargy en Haute-Savoie. Le suivi de l'évolution épidémiologique, d'une grande difficulté dans cette population sauvage protégée et peu accessible, est déterminant pour mesurer l'effet des mesures de lutte et pouvoir mener une analyse de risque réactualisée pour les populations humaines et de ruminants domestiques alentour.

Le bilan de l'étude *Résabeilles* (programme Epilobee cofinancé par l'Union européenne), après sa deuxième et dernière année d'existence prévue, montre l'intérêt de la démarche pour objectiver et quantifier la mortalité et les affections que connaissent les ruchers en France, malgré les nombreuses difficultés de terrain. À la lumière de cette expérience, la Commission européenne envisage de lancer un nouveau programme étendu à l'exposition aux pesticides.

Pour les zoonoses, la surveillance du compartiment animal peut représenter un moyen de vigilance et d'alerte pour l'Homme. C'est ce qu'ont étudié des équipes de l'InVS et du Cirad pour la leptospirose à la Guadeloupe, avec des résultats très intéressants et qui montrent également les limites de l'application pratique de ce concept.

Enfin, la surveillance épidémiologique sur notre territoire doit être complétée par une vigilance sur les dangers exotiques (par ex. en ce moment la peste porcine africaine dans le Nord de l'Union européenne), et également s'appuyer sur des programmes de collaboration avec des pays étrangers représentant des enjeux majeurs en santé animale, tels que la Chine.

Le comité de rédaction

Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la Direction générale de l'alimentation du ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt.



Tuberculose bovine en France : cartographie des souches de *Mycobacterium bovis* entre 2000-2013

Maria Laura Boschioli (1) (maria-laura.boschioli@anses.fr), Lorraine Michelet (1), Amandine Hauer (1,3), Krystel de Cruz (1), Aurélie Courcoul (2), Sylvie Hénault (1), Aurore Palisson (2,3), Claudine Karoui (1), Franck Biet (4), Gina Zanella (2)

(1) Anses, Laboratoire de santé animale, Unité Zoonoses bactériennes, Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Laboratoire de santé animale, Unité Epidémiologie, Maisons-Alfort, France

(3) Université Paris Sud, Villejuif, France

(4) Inra, UMR1282, Infectiologie et Santé publique (ISP-311), Nouzilly, France

Résumé

Le génotypage de souches de *Mycobacterium bovis* fournit des informations qui permettent de suivre la transmission de la tuberculose bovine dans l'espace et dans le temps. Les génotypes de la collection de souches de *M. bovis* isolées dans les foyers bovins en France entre 2000 et 2013 ont été analysés par spoligotypage et typage VNTR. Parmi les 976 souches étudiées, 163 génotypes différents ont pu être déterminés, dont six représentaient presque la moitié de la totalité des souches de l'étude. Les génotypes restants étaient peu représentés pendant la période mais la régionalisation demeure une caractéristique clef. Les souches prédominantes, dont la plupart sont également présentes dans la faune sauvage, persistent pendant toute la période, s'amplifiant par expansion clonale localement et semblant se pérenniser. Des fluctuations dans la variabilité génétique de *M. bovis* au cours du temps ont été constatées, avec une diminution de la diversité au milieu de la période étudiée. Néanmoins, une tendance à l'augmentation du nombre de génotypes a été observée pendant la sous-période 2009-2013, sans doute lié à l'amélioration de la surveillance au niveau national depuis la mise en place du nouveau plan de lutte en novembre 2011 qui a permis de détecter davantage de foyers. Cette grande variabilité génétique couplée à la forte régionalisation de génotypes fait du typage moléculaire un outil très puissant pour établir des hypothèses sur l'origine des foyers, mais également pour étudier les profils de transmission de l'infection et ainsi reconnaître les régions potentiellement à problème afin d'éviter sa propagation.

Mots-clés

Tuberculose bovine, *Mycobacterium bovis*, génotypage, diversité génétique, expansion clonale

Abstract

Bovine tuberculosis in France: mapping strains of *Mycobacterium bovis* over the 2000-2013 period

*Genotyping of *Mycobacterium bovis* provides information for following bovine tuberculosis transmission in space and time. The genotypes from the collection of *M. bovis* strains isolated from cattle outbreaks in France from 2000 to 2013 were analysed by spoligotyping and VNTR typing. Within the 976 strains studied, 163 different genotypes were found, six of which represent almost half of all the strains included in this study. The rest of the genotypes were less common throughout the period, but their regionalisation remained a common feature. The predominant strains, most of which are also found in wildlife, were seen throughout the period, proliferating locally through clonal expansion in endemic areas. Fluctuations of the genetic variability of *M. bovis* were observed over time, with a decrease in diversity found in the middle of the period studied. However, the number of genotypes tended to increase in the 2009-2013 sub-period, probably due to improved surveillance on the national level following implementation of a new control program launched in 2010 that enabled the detection of higher numbers of outbreaks. This great genetic variability coupled with the strong regionalisation of the genotypes makes molecular typing a powerful tool not only for establishing hypothetical outbreak origins, but also for studying the disease's transmission patterns and identifying regions with potential problems in order to its dissemination.*

Keywords

*Bovine tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, Genotyping, Genetic diversity, Clonal expansion*

Le génotypage des souches de *Mycobacterium bovis* permet d'étudier la dynamique de la tuberculose bovine et de mieux comprendre sa nature complexe en apportant des éléments pour déchiffrer l'origine des foyers. Les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, auquel appartiennent *Mycobacterium bovis*, ainsi que *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium tuberculosis* considérées également comme des agents de la tuberculose bovine, sont d'excellents microorganismes pour réaliser des études d'épidémiologie moléculaire sur la base de leurs caractères génotypiques. En effet, du fait de leur reproduction asexuée et de l'absence d'échange de matériel génétique entre elles, ces mycobactéries sont très clonales, c'est-à-dire qu'elles conservent des caractéristiques identiques à leur ancêtre le plus récent. Si une de ces bactéries passe d'un animal à un autre, elle conserve toutes ses caractéristiques génotypiques dans le nouvel hôte. Si une souche subit des mutations génétiques dans la région ciblée par le génotypage, celui-ci est donc capable de la différencier de son ancêtre : on considère qu'il s'agit d'un nouveau clone. Si deux animaux sont atteints de tuberculose et qu'une bactérie de génotype différent est isolée chez chacun d'eux, on peut ainsi en déduire qu'il n'y a pas eu de transmission entre eux, même s'ils ont été en contact étroit.

La technique de génotypage utilisée doit être en relation avec le taux de variation génétique de la bactérie. Dans le cas de la tuberculose bovine et en particulier de *M. bovis*, deux méthodes de génotypage

ont été choisies et sont largement utilisées : le spoligotypage et le typage VNTR (Encadré), qui permettent d'établir une différenciation entre souches de mycobactéries en tenant compte d'une relative stabilité génétique. La combinaison de ces deux techniques permet une différenciation très fine des souches ; ainsi 497 génotypes différents ont pu être identifiés en France entre 1978 et 2013 à partir de souches de *M. bovis* isolées dans des foyers bovins et chez des animaux sauvages (Hauer *et al.*, 2015).

Le génotypage aide à la reconstruction de possibles séquences d'infection, très difficiles à établir dans une maladie comme la tuberculose où l'animal peut héberger le bacille parfois pendant de longues périodes et être contagieux sans pour autant être identifié comme étant infecté. Si des informations épidémiologiques en lien avec un foyer sont disponibles, une chaîne de transmission peut éventuellement être établie, mais si elles sont absentes l'exercice s'avère impossible. Tel est le cas pour le décryptage du cycle de transmission faune domestique - faune sauvage. Les études dans la faune sauvage n'ont commencé qu'en 2000 en Forêt de Brotonne, en Normandie, où la prévalence de l'infection dans la faune sauvage était déjà élevée au moment de sa découverte et présente probablement depuis plusieurs années. Ultérieurement, grâce au dispositif Sylvatub (Rivière *et al.*, 2013), des études ciblées dans la faune sauvage ont été mises en place dans des régions avec un nombre croissant de foyers

Encadré. Le génotype d'une souche de *M. bovis* est déterminé par l'utilisation en parallèle de deux techniques de typage moléculaire, le spoligotypage et le typage VNTR

Spoligotypage

C'est méthode la plus utilisée pour génotyper des souches de *M. bovis*. Elle permet d'identifier le polymorphisme dans une zone du génome appelée DR (Direct Repeats) caractérisée par la présence ou l'absence de séquences appelées *espaces* (spacers). La position de chaque spacer dans la région DR est très conservée. La région DR est amplifiée par PCR (Polymerase Chain Reaction) et la caractérisation de la souche est basée sur la détection ou l'absence de détection de 43 spacers. Les profils obtenus sont déterminés d'après la base internationale Mbovis.org. La région DR étant très stable, les profils de spoligotypage permettent de reconstruire des événements évolutifs de manière assez fiable.

La base de données internationale Mbovis.org, a permis d'homogénéiser la nomenclature des profils (SB suivi de 4 chiffres). Cette nouvelle nomenclature remplace des nomenclatures spécifiques jusqu'alors utilisées dans les différents pays. Par exemple, certaines anciennes nomenclatures « GB » dessinaient des profils décrits originalement en Grande Bretagne; les profils « F » étaient ceux décrits pour la

première fois en France. Quant au profil « BCG », celui-ci correspond initialement au profil DR de la souche vaccinale de *M. bovis*, mais il n'est pas exclusif de cette souche et il est également observé dans des souches de terrain à l'origine de foyers.

Typage-VNTR

La technique VNTR (Variable Number Tandem Repeats) identifie les séquences répétées en tandem en nombre variable. Cette technique utilise l'amplification par PCR de ces régions. En France, huit régions génomiques sont caractérisées, dont six sont utiles pour comparer des souches d'origines géographiques différentes comme préconisé par le consortium européen VenoMYC et deux autres qui ont été identifiés comme étant très variables pour les souches françaises (Hauer *et al.*, 2015). Pour chaque souche de *M. bovis*, le résultat est donné sous forme d'une chaîne de caractères à huit chiffres qui définissent le profil de la souche. Ces zones génomiques ayant un taux de changement plus rapide que la zone DR, les profils VNTR permettent une analyse plus fine des souches.

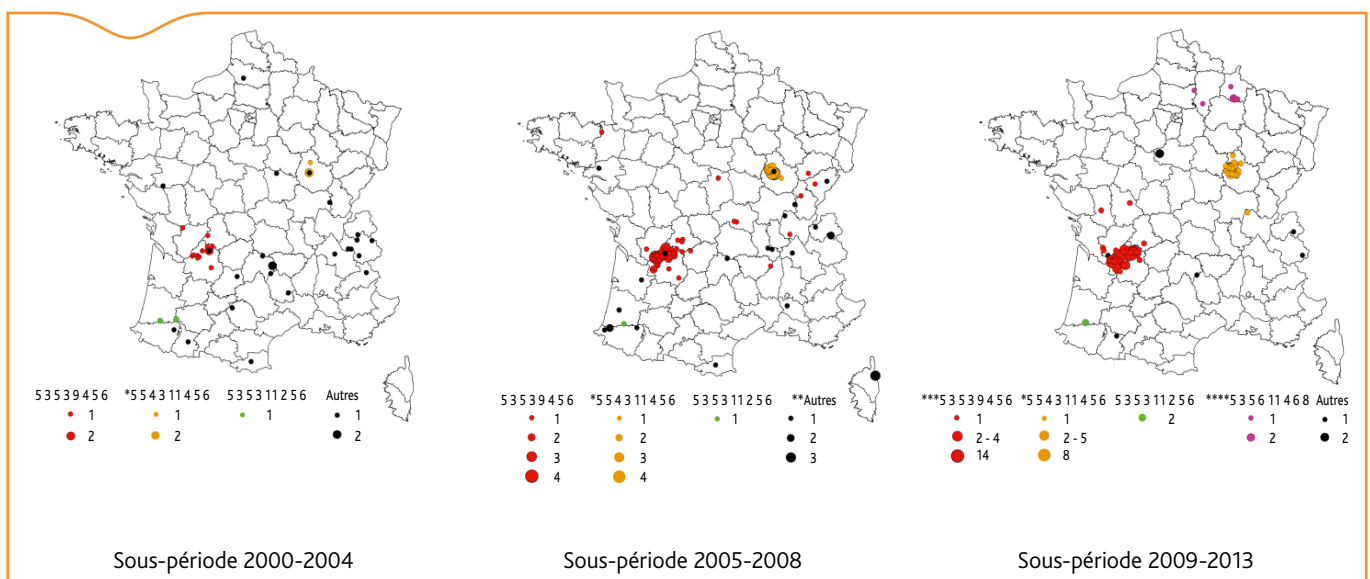


Figure 1. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant au spoligotype BCG (SB0120) par profil de VNTR entre 2000 et 2013; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes. VNTR aussi identifié chez la faune sauvage en *Côte-d'Or, en **Corse, en ***Dordogne, en ***Charente et dans ****les Ardennes

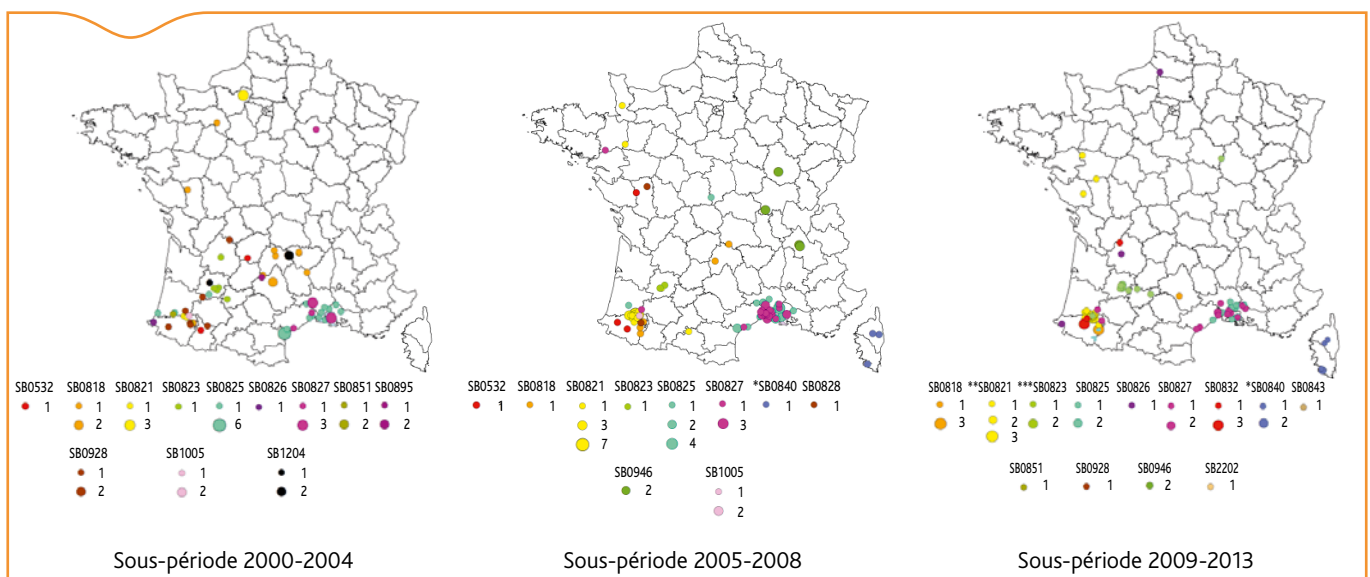


Figure 2. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant à la famille F4 par spoligotype entre 2000 et 2013; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes. Spoligotype aussi identifié chez la faune sauvage en *Corse, dans les **Pyrénées Atlantiques, le ***Lot-et-Garonne

bovins, et de manière systématique dans d'autres régions où des foyers bovins ont été mis en évidence à partir de 2011. Le génotypage est complémentaire des enquêtes épidémiologiques classiques et permet parfois de confirmer les origines de foyers quand il s'agit d'introduction d'animaux, de résurgence ou par contact du fait du voisinage. Vu la forte capacité de pérennisation de l'infection par *M. bovis* localement ainsi que la grande stabilité des marqueurs génétiques, il est facile de pouvoir établir des résurgences parfois au-delà de vingt ans quand on connaît le cheptel auquel appartient l'animal d'où la souche a été isolée. Les renseignements apportés par les enquêtes épidémiologiques sur des longues périodes, croisés avec les données de génotypage des souches isolées sont donc essentiels pour déterminer les origines possibles des foyers.

En France, d'importantes fluctuations de la variabilité génétique de *M. bovis* ont été constatées au cours du temps et selon la zone géographique, avec une diminution globale de la diversité des souches au cours des quinze dernières années, qui peut s'expliquer par la diminution de la prévalence de l'infection au niveau national (Hauer *et al.*, 2015).

Cet article décrit la distribution spatio-temporelle de souches de *M. bovis* isolées dans des foyers bovins entre 2000 et 2013. Au cours de cette période, la France a atteint les niveaux les plus faibles de prévalence et d'incidence de la maladie avec cependant des valeurs à la hausse au cours des dernières années. Par ailleurs, durant cette période, toutes les souches de *M. bovis* identifiées au laboratoire

Tableau 1. Nombre de souches incluses dans l'étude, isolées entre 2000 et 2013

Groupe de spoligotype	2000-2004	2005-2008	2009-2013	Total 2000-2013
SB0120 (BCG)	46	130	183	359
Famille F4	70	128	110	308
SB0134(GB35)	24	11	59	94
SB0121 (GB54)	25	16	29	70
Complexe Eu1	5	4	5	14
Autres	22	10	13	45
Ponctuels	48	13	25	86
Total	240	312	424	976

Tableau 2. Nombre de génotypes différents par groupe de souches incluses dans l'étude, entre 2000 et 2013

Groupe de spoligotype	2000-2004	2005-2008	2009-2013	Total 2000-2013
SB0120 (BCG)	25	21	16	54
Famille F4	12	10	13	16
SB0134(GB35)	5	6	4	8
SB0121(GB54)	11	5	8	20
Complexe Eu1	2	2	2	3
Autres	6	4	6	8
Ponctuels	31	8	20	54
Total	92	56	69	163

Tableau 3. Génotypes de *M. bovis* prépondérants dans la collection de cette étude

Spoligotype	Génotype		Région principale	Nombre de souches (% sur le total)
	VNTR			
SB0120 (BCG)	5 3 5 3 9 4 5 6		Dordogne	142 (14,6)
SB0120 (BCG)	5 5 4 3 11 4 5 6		Côte-d'Or	83 (8,5)
SB0825 (F61)			Camargue	68 (7,2)
SB0134 (GB35)	6 4 5 3 6 4 3 6		Côte-d'Or	60 (6,1)
SB0827 (F23)			Camargue	53 (5,4)
SB0821 (F7)			Pyrénées-Atlantiques	50 (5,1)
Total				456 (46,9)

national de référence (LNR Tuberculose, Anses, Maisons-Alfort) étaient systématiquement accompagnées de fiches de commémoratifs qui incluent les informations permettant l'identification du bovin infecté et du cheptel d'origine. Ces informations, souvent absentes avant 2000, ont permis d'établir des cartes de foyers par commune.

Matériel et méthode

Dans notre analyse, nous avons inclus les souches de *M. bovis* isolées dans les foyers de tuberculose bovine répertoriés par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) entre 2000 et 2013. Une seule souche a été prise en compte par animal. Ces souches ont été typées par spoligotypage systématiquement et par typage VNTR selon la sélection suivante: si plusieurs souches de même spoligotype étaient isolées dans un même cheptel, le typage VNTR a été réalisé sur au moins deux souches par an s'il s'agissait de cheptels infectés depuis plus d'un an (c'est par exemple le cas de certains cheptels en cours d'assainissement par abattage sélectif). Un génotype de *M. bovis* est donc une combinaison d'une donnée de spoligotypage et de typage VNTR. Afin de mieux décrire l'évolution spatio-temporelle des souches, l'analyse a été faite par sous-périodes choisies de façon arbitraire: 2000-2004, 2005-2008 et 2009-2013 (Tableau 1). Nous avons d'une part analysé les génotypes des souches de spoligotypes qui correspondent aux principaux groupes clonaux en France (Hauer *et al.*, 2015): SB0120 (BCG), SB0134 (GB35), SB0121 (GB54) et la famille F4. D'autre part nous avons également analysé des souches de type britannique, appartenant au complexe clonal Eu1 (Smith *et al.*, 2011). Nous avons défini dans cette étude un groupe d'« autres » souches qui possèdent des génotypes distincts en spoligotypage et en VNTR et qui ont été trouvées au moins quatre fois pendant la période globale, et au cours de deux sous-périodes ou plus. Le groupe de souches « ponctuels » est composé de souches avec des génotypes distincts en spoligotypage des autres groupes décrits précédemment, trouvées jusqu'à trois fois au cours de la période globale, mais ponctuellement dans une seule sous-période.

Pour les groupes principaux SB0120 (BCG), SB0134 (GB35), SB0121 (GB54), les « autres génotypes » correspondent aux profils VNTR qui n'ont pas été trouvés plus de trois fois dans la période globale.

Les cartes ont été construites à l'aide du logiciel ArcGIS 9.

Résultats

Variabilité génétique dans le temps

Des fluctuations dans la variabilité génétique de la mycobactérie ont été observées au cours du temps. Une importante diminution de la diversité étudiée a été constatée au milieu de la période. Néanmoins, une tendance à l'augmentation du nombre de génotypes a de nouveau été observée à partir de 2009, notamment en lien avec une recrudescence de souches de type « ponctuels » (Tableau 2).

Distribution de principaux groupes de souches

Parmi les 976 souches étudiées, 163 génotypes différents ont pu être déterminés, dont six représentaient presque la moitié de la totalité des souches de l'étude (Tableau 3).

Description détaillée des génotypes par groupe de spoligotypes

Groupe SB0120 (BCG) (Figure 1)

Cinquante-quatre génotypes appartenant à ce groupe ont pu être répertoriés entre 2000 et 2013 (Tableau 2). L'augmentation du nombre de souches d'une sous-période à l'autre (Tableau 1) est la conséquence d'une prolifération très régionalisée de deux génotypes principaux en Côte-d'Or (VNTR 5 5 4 3 11 4 5 6, en jaune) et en Dordogne (VNTR 5 3 5 3 9 4 5 6, en rouge) (Tableau 3). Le génotype principal de la Côte-d'Or n'a été trouvé qu'une seule fois dans un autre département entre

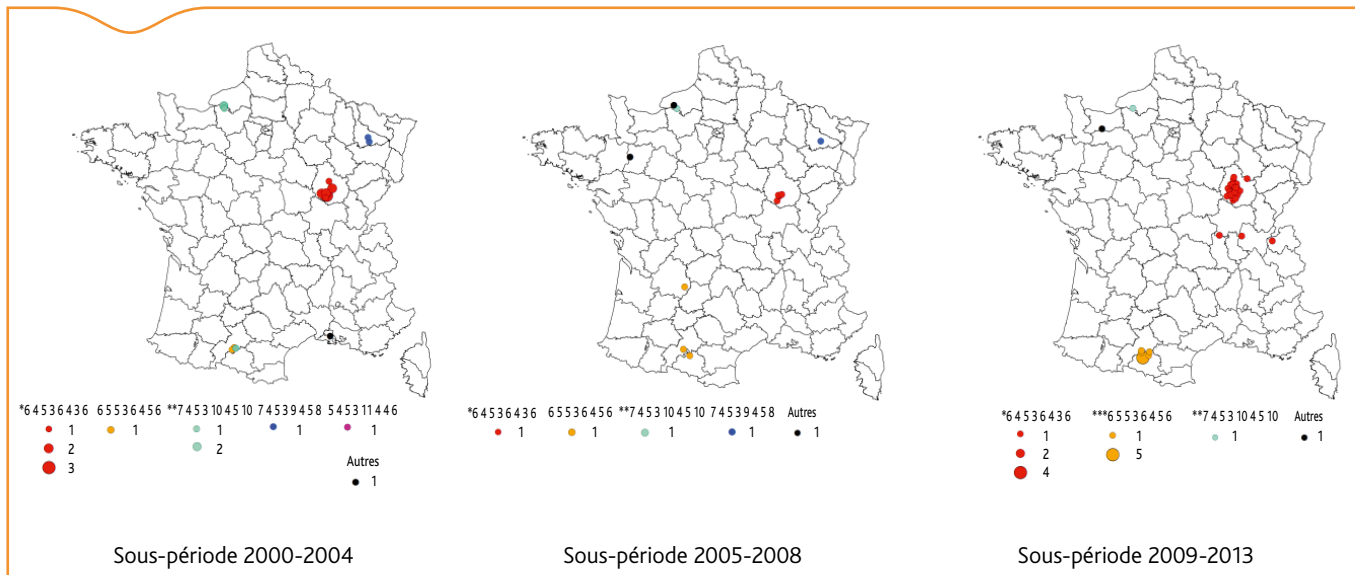


Figure 3. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant au spoligotype GB35 (SB0134) par profil de VNTR entre 2000 et 2013 ; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes. VNTR aussi identifié chez la faune sauvage en *Côte-d'Or, en **Normandie et en ***Ariège

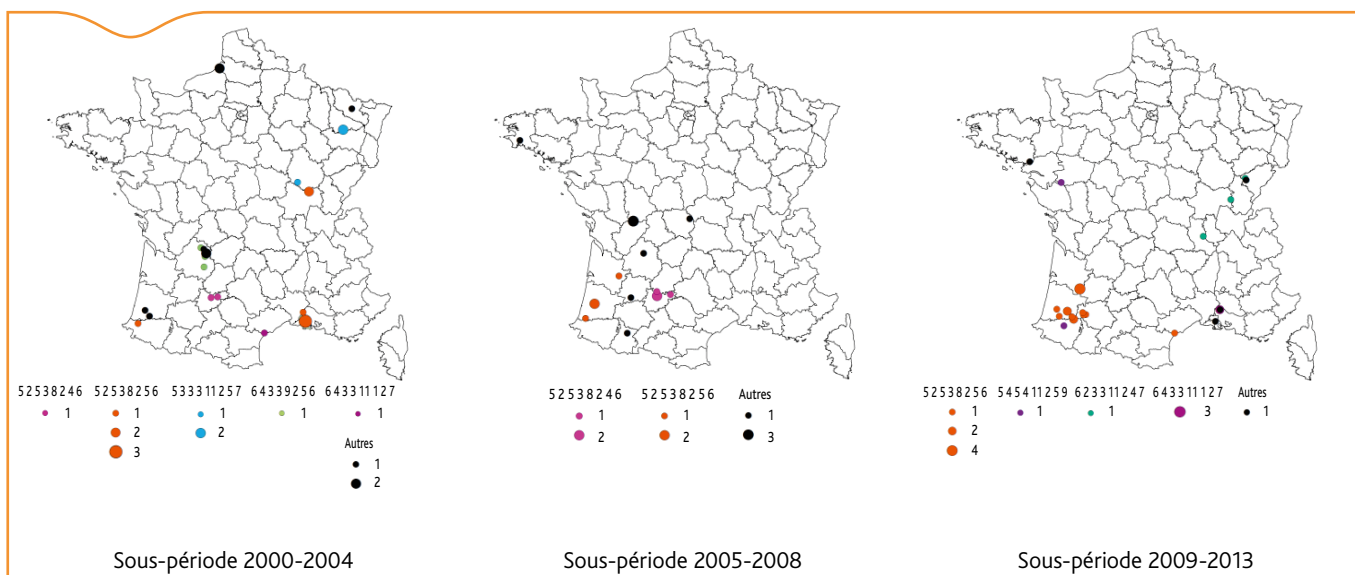


Figure 4. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant au spoligotype GB54 (SB0121) par profil de VNTR entre 2000 et 2013 ; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes

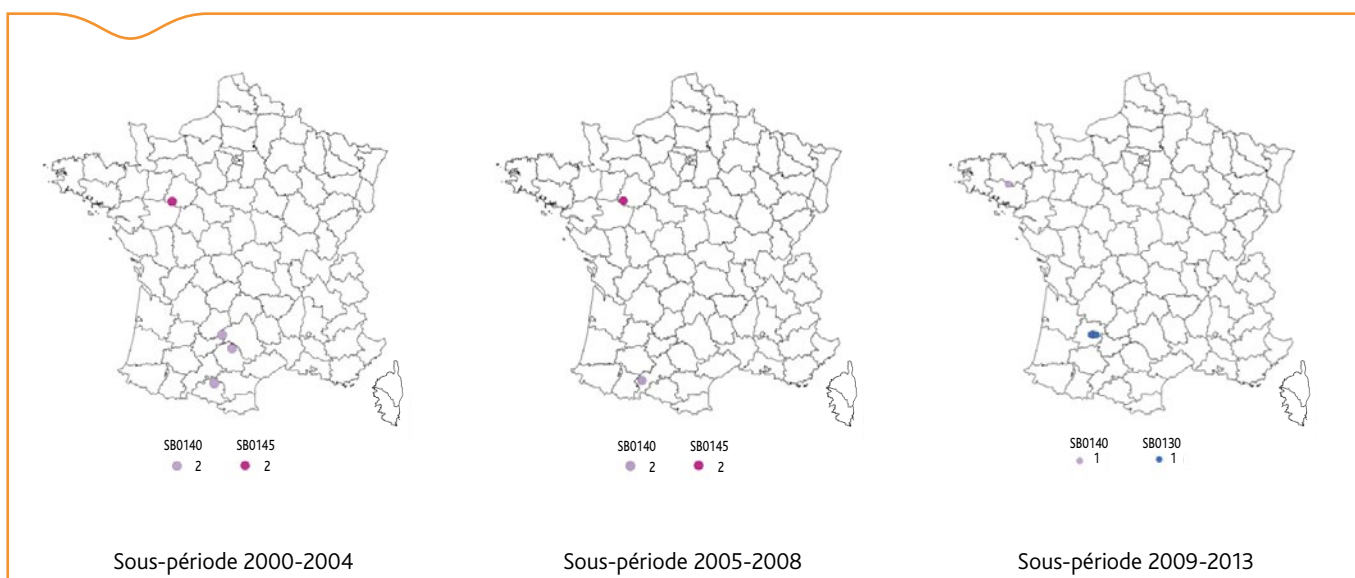


Figure 5. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* appartenant au complexe Eu1 par spoligotype entre 2000 et 2013 ; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes

2009 et 2013 (Figure 1). On observe la présence du même génotype trouvé en Dordogne dans des communes de départements limitrophes comme la Charente, la Haute-Vienne et la Corrèze entre 2000 et 2004, tandis que pour la deuxième sous-période, il se retrouve dans huit autres départements éloignés. Puis finalement, au cours de la troisième la sous-période l'infection par cette souche se cantonne à nouveau principalement à la Dordogne. Un autre génotype (VNTR 5 3 5 3 11 2 5 6, en vert) est présent dans les Landes au cours des trois sous-périodes et dans une commune des Pyrénées-Atlantiques au cours de la première sous-période. Le génotype qui apparaît en 2009-2013 dans les Ardennes (VNTR 5 3 5 6 11 4 6 8, en fuchsia), est également retrouvé dans les départements de l'Aisne et de l'Oise. Par ailleurs, les nombres d'« autres génotypes » tendent à diminuer.

Les profils de souches en expansion clonale (ceux de Côte-d'Or, de Dordogne et des Ardennes), c.à.d. une souche unique qui diffuse localement en élargissant son territoire, ont tous été retrouvés dans la faune sauvage locale.

Famille F4 (Figure 2)

La famille F4 est un groupe défini par des caractéristiques génétiques particulières mises en évidence par les méthodes de typage. Entre 2000 et 2013, seize des vingt-cinq spoligotypes différents qui caractérisent cette famille (Hauer *et al.*, 2015) ont pu être retrouvés. Pour cette famille, les types VNTR sont très conservés par spoligotype, dès lors les génotypes décrits prennent le nom des profils de spoligotype. Comme pour le groupe SB0120 (BCG), le nombre de souches isolées appartenant à la famille F4 a nettement augmenté au cours du temps. En effet, suite à la surveillance renforcée dans le Sud-Ouest, le nombre de souches d'un génotype en particulier a augmenté, celui du spoligotype SB0821 (F7), très amplement répandu dans une zone limitrophe du sud-est des Landes et du nord-est des Pyrénées-Atlantiques (Figure 2) et également détecté dans la faune sauvage de cette zone. Ce génotype en particulier, a également été retrouvé dans des départements distants, toujours en lien avec des animaux ayant été introduits à partir de ces régions du Sud-Ouest. D'autres génotypes comme le SB0840 (F1) en Corse et le SB0823 (F41) dans le Lot et Garonne, très présents localement, ont également affecté des espèces sauvages. La famille F4 se caractérise par la présence d'autres génotypes très locaux, comme les types SB0818 (F15) et SB1005 dans les Pyrénées-Atlantiques, et les types SB0827 (F23) et SB0825 (F61) rencontrés en Camargue. À la différence d'autres génotypes de la famille F4, une nette augmentation des souches provenant de Camargue est observée dans la sous-période 2005-2008 ceci étant lié à l'amélioration de la détection grâce à l'introduction du test IFN γ depuis 2004 (Keck *et al.*, 2012); la réduction du nombre de ces souches pendant la sous-période 2009-2013 (Figure 2) tient au succès de l'assainissement réalisé dans cette région.

SB0134 (GB35) (Figure 3)

Ce groupe présente une variabilité génotypique plus limitée que celle des deux groupes précédents avec seulement huit génotypes isolés entre 2000 et 2013. *A contrario* de ces deux groupes, une diminution du nombre de souches a été constatée dans la deuxième sous-période suivie d'une nette augmentation lors de la troisième sous-période (Figures 3 et Tableau 1). On observe deux profils principaux qui sont celui de l'Ariège (VNTR 6 5 3 6 4 5 6, en jaune) et celui de la Côte-d'Or (VNTR 6 4 5 3 6 4 3 6, en rouge) en nette augmentation dans la dernière sous-période. Ces deux profils ont atteint la faune sauvage de ces deux départements (Hars *et al.*, 2012).

SB0121 (GB54) (Figure 4)

Les souches de ce groupe appartiennent au complexe clonal Eu2, groupe principal pour la péninsule ibérique (Rodriguez-Campos *et al.*, 2012b) mais également bien présent en France. La variabilité des souches est importante par rapport au groupe SB0134 (GB35) (Tableau 2), vingt génotypes au total ont été identifiés dans cette étude, dont certains semblent avoir une localisation régionale mais ils n'ont pas nécessairement été observés au cours de toutes les sous-périodes. Ici encore, on observe une diminution sur la deuxième sous-période

en nombre et en variabilité des souches, avec la constatation d'une augmentation en troisième période notamment dans le Sud-Ouest (VNTR 5 2 5 3 8 2 5 6, en orange), qui serait liée à un réseau d'échanges commerciaux dans cette zone. Trois des « autres génotypes » de ce groupe ont été isolés à partir d'animaux en provenance d'Espagne. À ce jour, aucune souche de ce groupe n'a été trouvée chez la faune sauvage.

Complexe European 1 (Figure 5)

Le groupe du complexe Eu1 est dominant dans les Iles britanniques mais il est présent également en France, chez des bovins français. Ces souches ne prolifèrent pas mais elles ont été observées ponctuellement pendant toute la période.

Ce groupe est le moins représenté de tous avec un nombre faible et constant de souches isolées présentant une certaine variabilité génétique, dont trois spoligotypes différents pour un total de quatorze souches de 2000 à 2013.

Autres spoligotypes (Figure 6)

Ce groupe est constitué par des génotypes caractéristiques, uniques par leur spoligotype et profil VNTR, sans rapport avec les groupes précédents tout au moins vis-à-vis de ces deux techniques de caractérisation moléculaire. Certaines de ces souches (SB0999, SB0853, SB0819, SB0089, SB0837) persistent ou resurgissent entre 2000 et 2013 et restent très régionalisées. Une de ces souches, la SB0999, isolée fréquemment dans une zone du nord du Lot et le sud de la Dordogne, circule également dans la faune sauvage locale.

Spoligotypes ponctuels (Figure 7)

Ce groupe hétérogène est constitué de 54 génotypes dont les spoligotypes sont différents des groupes de souches françaises décrites auparavant. Le Tableau 2 et la Figure 7 montrent que ce type de souches était très disséminé en France au début de la période étudiée. Une diminution de la diversité génétique est intervenue au cours de la deuxième sous-période, mais ce phénomène s'est inversé pendant les cinq dernières années (Tableau 2 et Figure 7). L'analyse phylogénétique de souches par spoligotypage et la présence d'un profil VNTR identique ont permis d'établir que douze génotypes ponctuels étaient très proches des génotypes majoritaires donc que ces souches dérivent directement de souches prépondérantes entre 2000 et 2013. Quatre génotypes ont été isolés à partir de bovins en provenance d'autres pays européens et notamment d'Espagne, ou de bovins nés en France mais ayant été en contact avec des animaux étrangers. Ces génotypes « étrangers » sont par ailleurs très fréquents dans ces pays d'origine. Treize autres génotypes avaient été déjà décrits avant 2000, indiquant ainsi des cas de résurgence. En revanche, 25 génotypes sont originaux et il est difficile d'établir un lien avec d'autres profils génotypiques en France ou à l'étranger, faute de données permettant de relier ces foyers à de possibles introductions d'animaux en provenance d'autres pays.

Discussion

Deux situations assez contrastées sont retrouvées parmi la population des souches ayant provoqué des foyers de tuberculose bovine en France au cours des quatorze années étudiées. D'une part, presque la moitié des souches isolées entre 2000 et 2013 représentent un nombre réduit de génotypes; ces génotypes sont très localisés et semblent se pérenniser dans certaines régions. Bien qu'ils aient pu être observés également dans d'autres régions, cette propagation étant certainement liée aux mouvements d'animaux, leur expansion clonale est uniquement observée dans leurs régions d'origine. Quelles sont donc les raisons des expansions clonales des génotypes prépondérants dans leur région d'origine? Une hypothèse pourrait être l'acquisition de mutations qui les rendrait plus virulentes ou transmissibles, ce qui pourrait aussi expliquer leur passage à la faune sauvage. Néanmoins, le faible nombre de bovins infectés par ces souches, et qui présentent des lésions à l'abattoir, ne semble pas étayer cette hypothèse (Fediaevsky *et al.*, 2013). Par ailleurs, l'absence d'expansion clonale de ces souches dans d'autres régions ne va pas dans le sens d'une capacité accrue de leur transmissibilité. D'autres facteurs pourraient être mis en

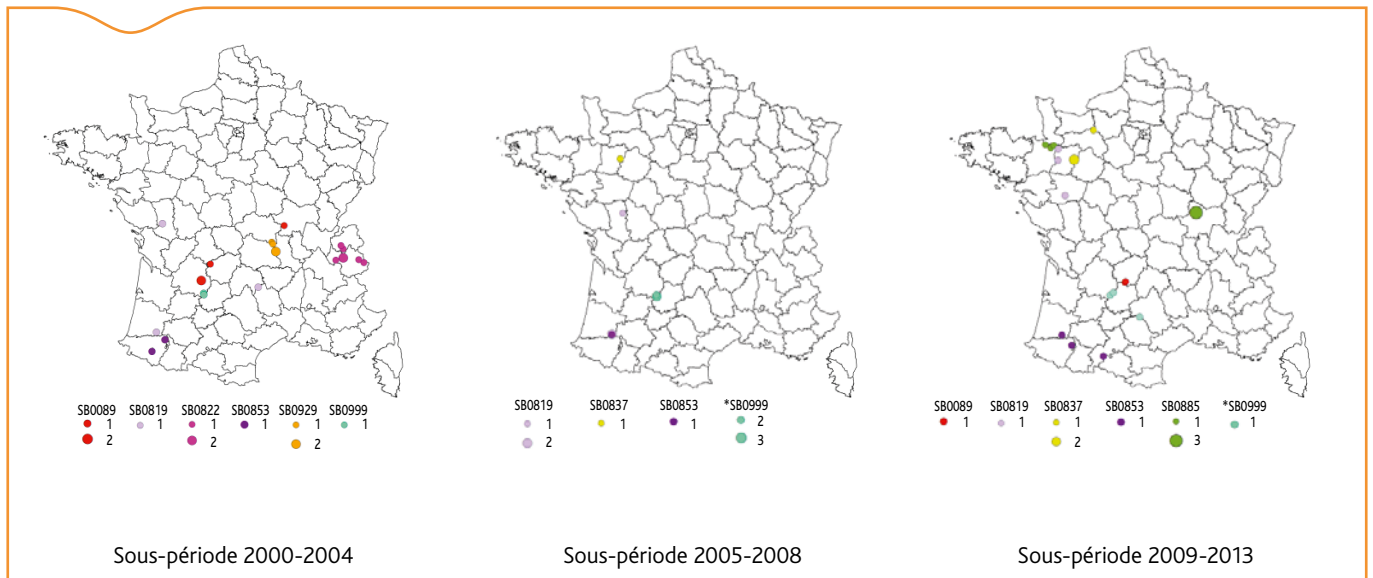


Figure 6. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* « autres » avec des spoligotypes n'appartenant à aucun groupe précédemment décrit entre 2000 et 2013; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes. Spoligotype aussi identifié chez la faune sauvage en *Dordogne

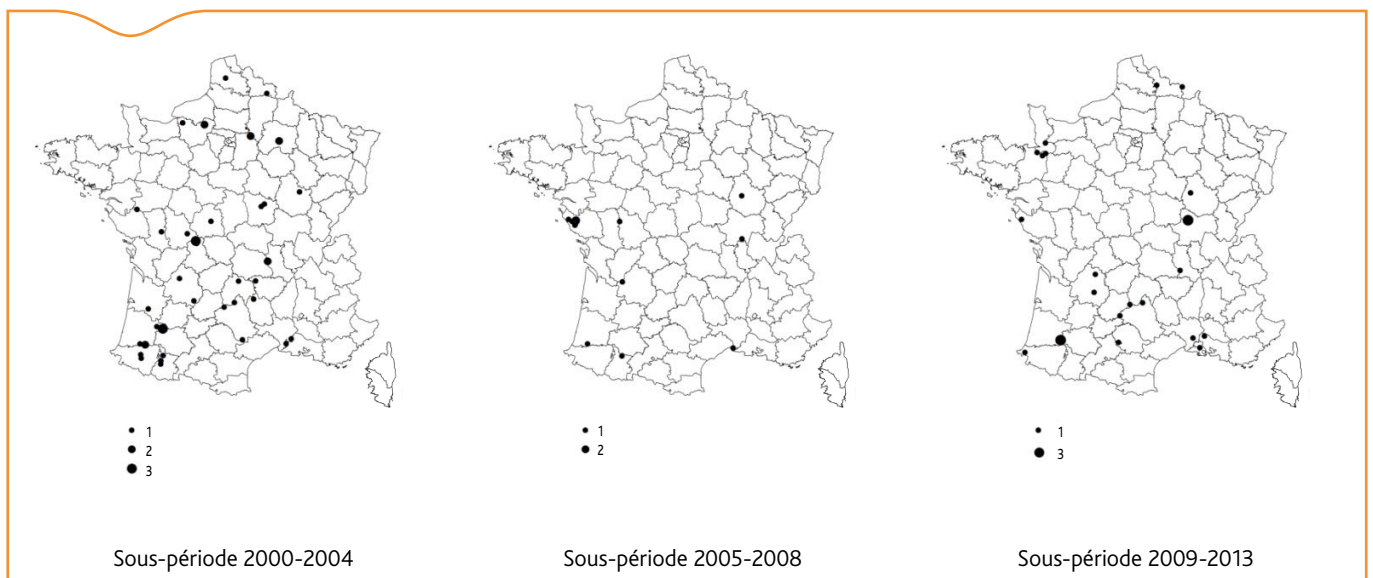


Figure 7. Nombre de souches de *Mycobacterium bovis* « ponctuelles » dont les spoligotypes n'ont été trouvés qu'une seule fois entre 2000 et 2013 ; données cumulées par commune sur les trois sous-périodes

avant pour expliquer la propagation locale de ces souches, dont des facteurs épidémiologiques. En effet, la contamination de la plupart des élevages allaitants où la tuberculose sévit largement, se produirait très probablement au pâturage. Le parcellaire imbriqué qui amène des contacts plus fréquents entre animaux, peut conduire au phénomène de diffusion locale de la maladie (Dommergues *et al.*, 2012). La faune sauvage étant très dense dans certaines zones et ayant libre accès au pâturage, a donc de grandes chances d'entrer en contact direct ou indirect avec les bovins à l'herbe, ce qui contribue sans doute à la diffusion locale de l'infection (Courcoule *et al.*, 2013).

D'autre part, l'autre moitié des souches isolées entre 2000 et 2013 ont des génotypes très variés et peu représentés. Ces génotypes sont également très dispersés sur le territoire. Les souches ponctuelles, assez nombreuses dans la première sous-période ont été moins nombreuses dans la deuxième sous-période. L'augmentation du nombre de génotypes constatée dans la troisième sous-période pourrait s'expliquer par une meilleure détection des foyers dans tout le territoire, comme c'est le cas pour les régions à génotypes majoritaires (SB0120, SB0121, SB0134, famille F4) grâce à la surveillance renforcée instaurée avec le nouveau plan de lutte, en place depuis novembre 2010 (http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Plan_action_tuberculose_

bovine_v2_2012_06_18_cle8e5188.pdf). L'apparition ou réapparition de ce type de souches est tout aussi préoccupante que la prolifération des génotypes majoritaires. En effet, pour la plupart, ces souches de génotypes ponctuels sont soit dérivées des souches de génotypes prédominants décrits dans cette étude, soit de souches de génotypes déjà observés avant la période étudiée, soit de souches de génotypes d'origine inconnue décrits dans cette période pour la première fois. Dans le premier cas, les souches ont eu le temps de cumuler des mutations, de changer et se différencier de leur ancêtre, indiquant que le programme de surveillance et de contrôle supposé éliminer la souche mère n'a pas été efficace. Dans le deuxième cas, c'est la qualité du dépistage et de l'assainissement appliqués dans certaines régions, qui pourrait être mise en cause car les souches sont retrouvées plus tardivement et très souvent dans ces mêmes régions. Quelques souches en provenance de l'étranger, principalement d'Espagne, sont également recensées dans ce groupe. Quant aux souches de génotypes d'origine inconnue décrits dans cette période pour la première fois, il pourrait s'agir d'une combinaison des raisons précédentes. Pour les « autres » génotypes, ce sont des souches très localisées trouvées pendant toute la période à plusieurs reprises sans pour autant que le phénomène d'expansion clonale ne soit observé contrairement à ce

qui est observé pour les souches de génotypes prédominants. Pour autant, l'infection persiste dans le temps et dès lors, on peut également évoquer un défaut du dépistage et de l'assainissement localement.

Malgré les très bons résultats de discrimination de souches, les méthodes de génotypage employées trouvent leurs limites pour expliquer la transmission dans les régions où une même souche est retrouvée dans les foyers comme c'est le cas pour les six génotypes principaux. En effet, pour adapter les mesures de contrôle actuelles au niveau local, de nouvelles méthodes de typage très discriminantes basées sur le séquençage du génome complet des bactéries, sont à envisager (Biek *et al.*, 2012).

Compte tenu de l'échelle nationale de cette étude, le contexte complexe de certains départements où plusieurs souches dominantes subsistent et prolifèrent localement ne peut pas être bien représenté. L'ensemble de données de génotypage est disponible pour les Coordonnateurs régionaux tuberculose et les membres des Cellules interrégionales d'épidémiologie vétérinaire (Cirev) qui dans leurs bilans réguliers réalisent des cartographies régionales très informatives. Les contextes épidémiologiques locaux basés sur les génotypes de souches étant plus détaillés, les tendances de diminution ou augmentation de la propagation de certains génotypes sont d'autant plus claires et des mesures de contrôle adaptées peuvent alors être mises en place.

Une base des données incluant les génotypes des souches de la faune sauvage pourrait à court terme être créée et accessible pour les gestionnaires sanitaires comme c'est le cas en Espagne, où ce type d'outil existe depuis 2012 (Rodríguez-Campos *et al.*, 2012a).

En conclusion, les outils de caractérisation moléculaire en tuberculose bovine sont d'une très grande utilité pour compléter les approches épidémiologiques conventionnelles. Ils permettent d'améliorer l'investigation de foyers, d'orienter la mise en place de nouveaux schémas de surveillance mais également d'évaluer l'efficacité des programmes de contrôle.

Remerciements

Nous remercions les laboratoires vétérinaires départementaux du réseau tuberculose ainsi qu'Alexandre Fediaevsky (DGAL) sans qui ce travail n'aurait pas pu voir le jour.

Références bibliographiques

Biek, R., O'Hare, A., Wright, D., Mallon, T., McCormick, C., Orton, R.J., McDowell, S., Trewby, H., Skuce, R.A., Kao, R.R., 2012. Whole genome sequencing reveals local transmission patterns of *Mycobacterium bovis*

in sympatric cattle and badger populations. *PLoS Pathog* 8, e1003008.

Courcou, A., Moutou, F., Vialard, J., 2013. Tuberculose bovine: investigations épidémiologiques au sein de troupeaux bovins infectés à plusieurs reprises. *Bull Epid Santé Anim Alim* 56, 10-14.

Dommergues, L., Rautureau, S., Petit, E., Dufour, B., 2012. Network of contacts between cattle herds in a French area affected by bovine tuberculosis in 2010. *Transbound Emerg Dis* 59, 292-302.

Fediaevsky, A., Courcou, A., Boschioli, M.L., Reveillaud, E., 2013. Tuberculose bovine en France en 2012 : des signaux favorables mais une situation toujours complexe dans certaines zones. *Bull Epid Santé Anim Alim* 59, 4-10.

Hars, J., Richomme, C., Rivière, J., Faure, E., Boschioli, M.L., 2012. Dix années de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage française et perspectives. *Bull Epid Santé Anim Alim* 52, 2-6.

Hauer, A., De Cruz, K., Cochard, T., Godreuil, S., Karoui, C., Henault, S., Bulach, T., Banuls, A.L., Biet, F., Boschioli, M., 2015. Genetic Evolution of *Mycobacterium Bovis* Causing Tuberculosis in Livestock and Wildlife in France since 1978. *PLoS one* 10, e0117103.

Keck, N., Tiffay M.C., Desvaux, S., Smyej, F., Boschioli, M.L., Durand, B., Vogler, V., 2012. Bilan du dépistage généralisé de la tuberculose bovine par le test interféron- γ en Camargue. *Point Vét* 329, 66-70.

Rivière, J., Réveillaud, E., Boschioli M. L., Hars, J., Richomme, C., Faure, E., Hendrikx, P., Fediaevsky, A., 2013. Sylvatub: bilan d'une première année de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. *Bull Epid Santé Anim Alim* 57, 10-15.

Rodríguez-Campos, S., Gonzalez, S., de Juan, L., Romero, B., Bezos, J., Casal, C., Alvarez, J., Fernandez-de-Mera, I.G., Castellanos, E., Mateos, A., Saez-Llorente, J.L., Dominguez, L., Aranaz, A., 2012a. A database for animal tuberculosis (mycoDB.es) within the context of the Spanish national programme for eradication of bovine tuberculosis. *Infect Genet Evol* 12, 877-882.

Rodríguez-Campos, S., Schurch, A.C., Dale, J., Lohan, A.J., Cunha, M.V., Botelho, A., De Cruz, K., Boschioli, M.L., Boniotti, M.B., Pacciarini, M., Garcia-Pelayo, M.C., Romero, B., de Juan, L., Dominguez, L., Gordon, S.V., van Soelingen, D., Loftus, B., Berg, S., Hewinson, R.G., Aranaz, A., Smith, N.H., 2012b. European 2--a clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in the Iberian Peninsula. *Infect Genet Evol* 12, 866-872.

Smith, N.H., Berg, S., Dale, J., Allen, A., Rodriguez, S., Romero, B., Matos, F., Ghebremichael, S., Karoui, C., Donati, C., Machado Ada, C., Mucavele, C., Kazwala, R.R., Hilty, M., Cadmus, S., Ngandolo, B.N., Habtamu, M., Oloya, J., Muller, A., Milian-Suazo, F., Andrievskaia, O., Projahn, M., Barandiaran, S., Macias, A., Muller, B., Zanini, M.S., Ikuta, C.Y., Rodriguez, C.A., Pinheiro, S.R., Figueroa, A., Cho, S.N., Mosavari, N., Chuang, P.C., Jou, R., Zinsstag, J., van Soelingen, D., Costello, E., Aseffa, A., Proano-Perez, F., Portaels, F., Rigouts, L., Cataldi, A.A., Collins, D.M., Boschioli, M.L., Hewinson, R.G., Ferreira Neto, J.S., Surujballi, O., Tadyon, K., Botelho, A., Zarraga, A.M., Buller, N., Skuce, R., Michel, A., Aranaz, A., Gordon, S.V., Jeon, B.Y., Kallenius, G., Niemann, S., Boniotti, M.B., van Helden, P.D., Harris, B., Zumarraga, M.J., Kremer, K., 2011. European 1: a globally important clonal complex of *Mycobacterium bovis*. *Infect Genet Evol* 11, 1340-1351.

Situation épidémiologique vis-à-vis de la tuberculose des élevages de bovins dits « sauvages » de la zone Camargue : évolution depuis 2009 et bilan de l'utilisation du test de dépistage interféron

Stéphanie Desvaux (1) (stephanie.desvaux@agriculture.gouv.fr)*, Magali Breton (2), Daniel Pugliese (2), Sophie Jean-Baptiste (3), Marie-Line Lovato (3), Florence Smyej (4), Anne Grob (5), Joanne Befort (6), Nicolas Keck (7)

(1) Direction régionale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt de Corse, Service régional de l'alimentation, Montpellier, France

(2) Direction départementale de la protection des populations, Service santé animale, Marseille, France

(3) Direction départementale de la protection des populations, Service santé animale, Nîmes, France

(4) Direction départementale de la protection des populations, Service santé animale, Montpellier, France

(5) Laboratoire départemental d'analyses, Marseille, France

(6) Laboratoire départemental d'analyses, Nîmes, France

(7) Laboratoire départemental vétérinaire de l'Hérault, Montpellier, France

* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé animale (Plateforme ESA)

Résumé

Alors que la tuberculose bovine était enzootique depuis de nombreuses années dans les élevages de bovins de Camargue élevés pour les spectacles taurins, l'introduction progressive du test par le dosage de l'interféron gamma à partir de 2004 a contribué à assainir la population en dix ans. L'incidence annuelle est passée à moins de 1 % en 2014 après avoir été régulièrement au-dessus des 5 % depuis 2005, avec un pic à 10 % en 2010. L'article présente les résultats du deuxième dépistage généralisé par le test interféron en détaillant les caractéristiques terrain de ce test (valeur prédictive positive et spécificité). Une analyse du profil des bovins présentant des réactions faussement positives y est faite, ainsi qu'une tentative pour identifier les variables influençant la survenue de résultats ininterprétables. Enfin les perspectives en matière de surveillance sont évoquées.

Mots-clés

Tuberculose, Camargue, spectacle taurin, test interféron gamma

Abstract

Bovine tuberculosis epidemiological situation of the "wild" bovine cattle farms from the Camargue region: evolution since 2009 and results of the use of gamma interferon assay

While bovine tuberculosis had been endemic for several years in bullfighting cattle herds from Camargue, progressive use of the gamma interferon (IFN) assay since 2004 contributed to controlling the infection within a ten years period. Annual incidence dropped to under 1% in 2014 after having regularly risen to above 5% since 2005 with a peak at to 10% in 2010. This article presents the results of the second comprehensive herd testing programme using IFN assay, including field test performance details (specificity and positive predictive value). An analysis of cattle with false positive reactions was conducted as well as an attempt to identify variables having an influence on results interpretability. The surveillance outcome for the Camargue region is also mentioned.

Keywords

Tuberculosis, Camargue, Fighting bulls, Gamma Interferon test

L'élevage de bovins dits « sauvages » de la zone Camargue représente un peu plus de 250 manades et ganaderias⁽¹⁾ (29 000 bovins de race Camargue ou « Raço di Biou », et Brave ou race de « combat ») répartis dans deux départements de la région Languedoc-Roussillon (LR), l'Hérault (34) et le Gard (30) pour environ la moitié du cheptel, et dans un département de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), les Bouches du Rhône (13), pour l'autre moitié. Le cheptel des races Camargue et Brave représente moins de 5 % du cheptel bovin de la région Languedoc-Roussillon et près de 30 % pour la région PACA. Les animaux de ces races, sélectionnés pour leur agressivité, sont élevés pour les spectacles taurins ; ils sont essentiellement échangés entre les manades et ganaderias de la zone et ont des aires de pâturage assez différentes des autres élevages de bovins, ce qui explique que la tuberculose, bien qu'enzootique dans ce cheptel depuis de nombreuses années, n'ait pas touché les élevages dits « domestiques », c'est-à-dire hors manades et ganaderias.

Entre 1996 et 2005, la prévalence annuelle apparente des élevages (proportion de manades et ganaderias reconnues infectées) variait entre 3,7 et 10,4 %, et était en moyenne de 5,5 % au cours de cette période (Cadorel, 2008). Ce niveau d'infection, déjà très élevé dans un contexte où la France a obtenu son statut de pays officiellement indemne de tuberculose au niveau communautaire en 2001, était sous-estimé puisque le dépistage en élevage ne permettait pas une détection

optimale des foyers. En effet, à cause d'un dépistage en élevage par l'intradermo-tuberculination simple (IDS) largement défaillant (par ex. animaux infectés âgés et ne réagissant plus à l'IDS, non réalisation ou difficulté de réalisation de l'IDS sur ces animaux à caractère sauvage), la détection des animaux infectés était jusque-là essentiellement réalisée à l'abattoir (80 % des foyers entre 2001 et 2005 (Keck, 2010)). Ainsi, pour améliorer le dépistage précoce des troupeaux infectés, les départements de Camargue ont commencé à utiliser le test interféron gamma (IFN) commercialisé par le laboratoire Prionics (Bovigam®) à partir de 2004. L'utilisation de ce test a été progressive et a permis de détecter un nombre important de nouveaux foyers avant qu'une première campagne de dépistage généralisée soit programmée en 2009-2011. Le test a ainsi d'abord été utilisé pour les assainissements dans le département de l'Hérault afin d'évaluer les performances de ce test encore non utilisé en France, et a ensuite été déployé dans les trois départements, à la charge de l'État, pour un dépistage étalé entre 2006 et 2008 dans les élevages sélectionnés comme étant à risque d'être infectés (élevages en lien épidémiologique avec un foyer, élevages qui avait eu un assainissement dans les cinq années précédentes et élevages sans envoi d'animaux à l'abattoir), puis l'utilisation du test IFN a été imposée lors de mouvements d'animaux entre élevages. Ainsi, l'incidence annuelle apparente a augmenté progressivement de 2004 à 2008 (passant de 3 à 6 %) et l'essentiel des foyers a été détecté durant cette période (68 foyers détectés de 2004 à 2008 contre 45 de 2009 à 2014). Au-delà de l'amélioration du dépistage en élevage, d'autres actions ont été menées afin de lutter contre la maladie, notamment en matière de conditions d'accueil des animaux dans les arènes et en

(1) Les manades élèvent des bovins de race Camargue, détenus pour l'organisation de spectacles type course camarguaise ou spectacles de rue ; les ganaderias élèvent des bovins de race Brave, détenus pour l'organisation de corridas.

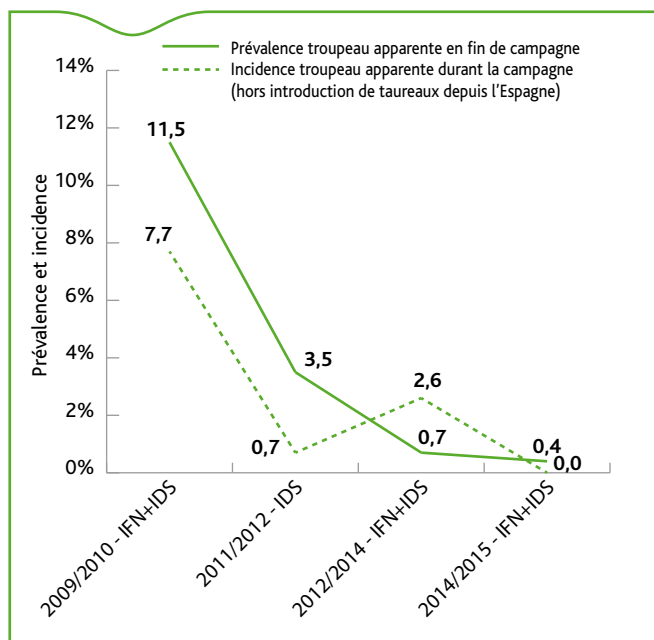


Figure 1. Évolution de la prévalence et de l'incidence apparentes (hors taureaux espagnols introduits pour corridas et détectés infectés)

IFN: interféron gamma
IDS: intradermo-tuberculation simple

termes de réduction des pratiques à risque, mais aussi par l'information et la sensibilisation des éleveurs et des vétérinaires.

Ainsi, grâce à une action concertée des services vétérinaires au niveau inter-régionale (Languedoc-Roussillon et PACA), à une forte mobilisation des acteurs locaux réunis en comité de pilotage inter-régional (laboratoires, vétérinaires sanitaires, GDS, représentants des éleveurs et services de l'État en charge de la santé animale), les actions débutées il y a dix ans ont porté leur fruit puisque la prévalence a fortement diminué (Figure 1) et toutes les détections de nouveaux foyers sont maintenant réalisées en élevage.

Modalités de la surveillance de 2009 à 2014

Les manades et ganaderias sont en dépistage obligatoire annuel pour la tuberculose. Deux dépistages généralisés par le test IFN ont été organisés entre 2009 et 2011 (campagnes de dépistage 2009/2010 et 2010/2011) et entre 2012 et 2014 (campagnes 2012/2013 et 2013/2014). Lors de ces dépistages généralisés, la moitié des élevages étaient dépistés par le test IFN chaque année (bovins de plus de 24 mois), les animaux restants étaient dépistés par le test IDS (bovins de plus de 12 mois). Les deux dépistages généralisés par le test IFN ont été financés à 50 % par l'État et 50 % par les collectivités territoriales (conseils généraux des Bouches-du-Rhône, du Gard et de l'Hérault et conseil régional de Languedoc-Roussillon). À la suite du deuxième dépistage généralisé par le test IFN, la campagne 2014/2015 a été réalisée par IDS - comme celle de 2011/2012 entre les deux dépistages IFN - mais un suivi renforcé par le test IFN a été programmé dans d'anciens foyers pour cette dernière campagne de dépistage.

Évolution récente de la situation épidémiologique

La Figure 1 donne les prévalences et incidences par campagne de dépistage et non pas de façon annuelle. On remarque que la tendance observée lors de la campagne IDS de 2011/2012 avec un faible taux de suspicion et de nouveaux foyers (deux foyers détectés par IDS en dépistage), a été confirmée par la campagne de dépistage généralisé IFN 2012-2014. La situation sanitaire des manades et ganaderias s'est donc nettement améliorée depuis la première campagne de dépistage

généralisée par le test IFN (2009-2011), et de façon plus générale depuis 2004 avec l'introduction progressive du test IFN. Le taux d'incidence annuelle est passé de 7 % en 2010 (pic d'incidence annuelle apparente depuis 2000) à 0,7 % en 2014 avec seulement deux nouveaux foyers détectés en élevage et aucune détection en abattoir. Les incidences et prévalences présentées ne tiennent pas compte des détections en abattoir sur des taureaux espagnols introduits en Camargue pour corrida (quatre taureaux découverts porteurs de lésions et confirmés infectés suite à des corridas entre 2013 et 2014). Ces taureaux sont introduits directement en arène ou en corral, et sont abattus lors d'une corrida immédiatement ou dans les semaines qui suivent, ou renvoyés dans leur élevage d'origine.

Bilan de la surveillance en élevage pour les campagnes de dépistage de 2012 à 2014

La campagne de dépistage généralisé IFN-IDS programmée sur les années civiles 2012 et 2013 a été en réalité réalisée d'août 2012 à mars 2014, puisque les dépistages annuels s'étalent entre l'été et le début du printemps suivant, la majeure partie du dépistage se déroulant entre septembre et janvier de l'année suivante. À part quelques élevages marginaux en irrégularité, tous les élevages ont pu être dépistés par le test IFN et par IDS lors de cette campagne.

Taux de suspicion global

Le taux de suspicion au niveau élevage (proportion d'élevages suspects - c'est-à-dire avec au moins une réaction non négative à l'un des tests de dépistage - par rapport aux élevages testés) est très différent entre le dépistage par IDS et par test IFN. Pour le dépistage par test IFN, le taux de suspicion global était d'environ 24 % pour cette campagne 2012-2014 (Tableau 1). Ce taux de suspicion était d'environ 45 % pour la campagne IFN précédente (2009-2011) notamment en raison du choix d'un seuil abaissé (avec deux modalités: « positif » et « douteux »). Cette modalité « douteux » a été abandonnée par la suite car elle ne permettait pas d'augmenter la sensibilité de la détection au niveau élevage. Bien qu'ayant fortement diminué, ce taux de suspicion reste élevé (24 %) et nécessite encore un investissement conséquent de la part des services de l'État en charge de la santé animale, même si dans la plupart des cas la levée, de l'APMS (arrêté préfectoral de mise sous surveillance) est rapide car l'abattage diagnostique (abattage de l'animal suspect pour réaliser une inspection renforcée et des analyses complémentaires systématiques) est le mode de gestion le plus courant par rapport aux recontrôles des animaux à six semaines.

En comparaison, le taux de suspicion par IDS était d'environ 1,5 % pour cette campagne sur deux années en alternance avec l'IFN. Il était de 2,6 % pour la campagne 2011/2012 en dépistage IDS seul. Ces chiffres sont en deçà de la moyenne nationale qui était d'environ 5 % de suspicion en IDS pour l'année 2013 (Fediaevsky *et al*, 2014). Cependant, le fait d'avoir des IDS non négatives rapportées constitue un signal encourageant dans un contexte où la réalisation du dépistage avec ce test était largement défailante par le passé. Des actions pour sensibiliser les vétérinaires et les éleveurs ainsi que pour améliorer la contention sont cependant encore à poursuivre.

Données générales sur les foyers confirmés lors de la campagne 2012-2014

Tous les foyers détectés lors de cette campagne l'ont été par le dépistage en élevage grâce au test IFN. Seuls les élevages infectés ayant de très petits effectifs ou ne souhaitant pas poursuivre leur activité ont subi un abattage total. Les autres ont demandé une dérogation à l'abattage total et ont été assainis par abattage sélectif (Tableau 2).

La moyenne d'âge des bovins infectés était de sept ans (calcul sur 14 bovins infectés). Le nombre moyen de bovins infectés par foyer était de 2,8 (min = 1 max = 9). Cette moyenne est au dessus de ce qui est observé au niveau national (en moyenne un bovin infecté par

Tableau 1. Bilan chiffré par département du deuxième dépistage généralisé par dosage IFN en Camargue (campagne 2012-2014)

	Nombre de manades ou ganaderías	Nombre de cheptels avec un résultat IDT non négatif (taux suspicion IDT, en %)	Nombre bovins prélevés pour le test IFN (Nb cheptels)	Bovins avec résultats ininterprétables (INI) (proportion par rapport aux bovins prélevés, en %)	Bovins avec quantité insuffisante et INI (proportion par rapport aux bovins prélevés, en %)	Nombre IFN pos (proportion par rapport aux bovins prélevés, en %)	Nombre IFN pos abattus (% du total des IFN pos)	Nombre cheptel avec au moins un résultat IFN pos (taux suspicion IFN, en %)	Nombre cheptel avec recontrôle	Nombre bovins confirmés	VPP (calculée avec les seuls bovins abattus) (en %)	VPP bis (calculée avec les bovins abattus ou recontrôlés) (en %)
Bouches du Rhône	120	2 (1,2)	8 357 (94)	987(11,8)	1 022 (12,2)	41 (0,5)	38 (92,7)	21 (22,3)	0	3	7,3	7,9
Gard	108	0 (0,0)	6 110 (106)	488 (8)	578 (9,5)	44 (0,7)	41 (93,2)	18 (17)	2	4	9,1	9,8
Hérault	62	2 (5,3)	3 067 (44)	218 (7,1)	269 (8,8)	35 (1,1)	25 (71,4)	19 (43,2)	3	6	17,1	25
TOTAL	290	4 (1,5)	17 534 (244)	1 693 (9,7)	1 869 (10,7)	120 (0,7)	104 (86,7)	58 (23,8)	5	13	10,8	12,5

INI: non interprétable

Tableau 2. Description des cheptels confirmés infectés lors du dépistage programmé (« prophylaxie »)

	Nombre de cheptels infectés	Nombre foyers en abattage partiel	Nombre de foyers en abattage total	Nombre de bovins testés positifs en dépistage programmé	Nombre de bovins confirmés infectés (bovins à lésions)	Nombre total de bovins détectés infectés à la fin de l'assainissement (bovins à lésion)
Bouches du Rhône	2	2	0	9	3 (3)	3 (3)*
Gard	1	1	0	11	4 (1)	9 (2)
Hérault	4	1	3	9	6 (6)	8*(8)**
Total	7	4	3	23	13 (56 % des réagissants)	20 (13)

* 1 assainissement encore en cours

** 3 bovins avec lésions non prélevés à l'abattoir donc non confirmés infectés

foyer) avec cinq des sept foyers présentant plus d'un bovin infecté. Ces chiffres indiquent probablement des infections relativement anciennes dans les foyers et restées jusque-là non dépistées.

Evaluation du dépistage par le test IFN sur la période 2012-2014

Bilan des prélèvements, acceptation globale du test et gestion pratique des bovins positifs par le test IFN

Sur les presque 18 000 prélèvements de la campagne, environ 10 % n'ont pas pu être analysés pour cause de quantité insuffisante de sang ou ont eu un résultat ininterprétable (INI) selon des critères harmonisés entre les laboratoires (Tableau 1). La différence observée, entre les départements, de proportion de prélèvements non analysables ou à résultat INI (encore accentuée si on analyse l'ensemble des tests réalisés par chacun des départements et pas uniquement les tests de dépistage, notamment les tests réalisés dans le cadre de la police sanitaire) n'est pas expliquée à ce jour (voir ci-dessous). La proportion de résultats INI au niveau d'un élevage pouvant dépasser les 10 % voire parfois les 20 %, cela oblige dans ces cas à faire réaliser de nouveaux tests. Ceci suscite beaucoup d'interrogations et de mécontentement de la part des éleveurs et constitue un frein essentiel en termes d'acceptation du test. La possibilité de ne faire passer les bovins qu'une seule fois dans le couloir de contention lors du dépistage IFN contribue en revanche à donner une image globalement très positive de ce test sur le terrain, et son utilisation n'est jusqu'à ce jour pas remise en cause par les professionnels lors des comités de pilotage inter-régionaux.

En termes de gestion des réactions positives, peu d'élevages n'ont pas fait l'objet d'abattage diagnostique suite à un résultat IFN positif (Tableau 1). Ceci était le résultat attendu étant donné l'abandon de la modalité « douteux ». Dans tous les cas où l'abattage n'a pas eu lieu, un nouveau prélèvement pour un test IFN utilisant des antigènes dits

recombinants (reconnus pour être plus spécifiques que la tuberculine normalement utilisée) a été réalisé (en complément de l'IDS ou l'IDC).

Valeur prédictive positive des résultats IFN positifs

La valeur prédictive positive d'un résultat IFN positif, d'environ 12,5 %, a baissé significativement par rapport à la dernière campagne IFN où elle était de l'ordre de 33 % (Tableau 1). C'est une tendance normale dans un contexte de diminution de la prévalence.

Confirmation terrain de la spécificité du test IFN pour la population de bovins dits « sauvages » de la région Camargue

La spécificité individuelle du test IFN avec le seuil actuellement utilisé avait été évaluée précédemment à 99,7 % (IC 95 % : 99,6 %-99,8 %) (Keck et al, 2012). Avec une telle spécificité, le nombre attendu de réactions faussement positives dans une population indemne est de l'ordre de 0,2 à 0,4 %. Le taux de réactions apparemment faussement positives estimé pour cette campagne a été de 0,7 % (correspondant à une spécificité de 99,3 %), donc légèrement au-dessus du taux attendu. Cela pourrait s'expliquer par un défaut de sensibilité de la méthode de confirmation (abattage diagnostique), notamment dans les foyers où des animaux réagissant n'ont pas été confirmés infectés, et peut être également par l'évolution au cours des années des performances de la méthode Bovigam® dans le sens d'une meilleure détectabilité, tel qu'observé lors de la validation des lots (communication personnelle Jean-Louis Moyen). Ce taux reste cependant tout à fait acceptable pour un test de dépistage de la tuberculose.

Profil des animaux réagissant et analyse des causes possibles de réactions faussement positives

L'âge moyen des animaux avec un résultat IFN positif non confirmé infecté est inférieur à celui des animaux avec un résultat IFN négatif ou INI (Tableau 3). En revanche, il ne semble pas y avoir de différence d'âge

Tableau 3. Répartition de la population de bovins testés en IFN selon leur âge et leur résultat au test

Age (en années)	Résultat IFN positif (sans les infectés) n=129	Résultat IFN négatif n=12 843	Résultat IFN ininterprétable (INI) n=1 287
Âge moyen	4,6	6,4	6,5
Age min	1,3	0,5	1,3
Age max	16,8	30,6	24,0
Age médian	3,6	5,6	5,6

Tableau 4. Résultats de la régression logistique multivariée appliquée à l'étude des facteurs influençant la survenue de réactions faussement positives au test IFN

	Odds Ratio [Intervalle de confiance à 95 %]*	p-value**
Age	0,83 [0,77-0,89]	0,000
Sexe		
Femelle	Référence	
Mâle	1,86 [1,31-2,64]	0,001

* un OR de 1 indique une absence de relation entre la variable et un résultat IFN positif. Un OR >1 indique un risque accru et un OR < 1 un risque réduit.

** une p-value <0,05 indique un effet significatif de la modalité étudiée en comparaison avec la modalité de référence.

Tableau 5. Résultats de la régression logistique multivariée appliquée à l'étude des facteurs influençant la survenue de résultats ininterprétables au test IFN

	Odds Ratio [Intervalle de confiance à 95 %]*	p-value**
Laboratoire		
LDA A	Référence	
LDA B	0,47 [0,41-0,55]	0,000
LDV C	0,60 [0,54-0,68]	0,000

* un OR de 1 indique une absence de relation entre la variable et un résultat IFN positif, Un OR >1 indique un risque accru et un OR < 1 un risque réduit.

** une p-value <0,05 indique un effet significatif de la modalité étudiée en comparaison avec la modalité de référence.

entre les animaux avec un résultat IFN négatif et ceux avec un résultat IFN INI. Cette différence pour les réactions positives peut s'expliquer par une fréquence plus élevée des réactions non spécifiques chez les animaux jeunes, comme cela est décrit dans la littérature (Cagiola *et al*, 2004).

Les variables disponibles pouvant contribuer à expliquer la fréquence des réactions faussement positives sont l'âge, le sexe et la race. En analyse univariée par régression logistique, les trois variables ont une influence sur la survenue d'un résultat IFN positif mais en analyse multivariée, seuls les effets âge et sexe sont confirmés (contrairement aux bovins de race Camargue, seules les femelles et les étalons de race Brave sont testés en IFN, l'effet de variable race est donc confondu avec celui du sexe). On observe donc que le risque d'avoir une réaction faussement positive diminue avec l'âge et est plus élevé pour les mâles que pour les femelles (Tableau 4).

Analyse des causes possibles de réactions ininterprétables par le test IFN

Parmi les différentes hypothèses sur les causes d'ininterprétabilité des résultats IFN, figurent l'âge et la race. En effet, un jeune animal est peut-être davantage stressé qu'un animal plus âgé, lequel est plus habitué à passer dans un couloir de contention. De même, les bovins de race Brave, sélectionnés pour la corrida, pourraient *a priori* poser plus de problèmes de contention et donc entraîner un stress pour les animaux. Le vétérinaire sanitaire et le laboratoire d'analyse sont d'autres variables qui peuvent être testées car la technicité du manipulateur sur le terrain ou au laboratoire peuvent influencer également la survenue de résultats INI.

Un jeu de données de 14 138 résultats IFN a pu être constitué. Les variables étudiées (âge, race, sexe, vétérinaire sanitaire et laboratoire) ont été étudiées tout d'abord séparément par régression logistique.

Seule la variable laboratoire avait une influence significative sur la survenue d'un résultat INI. Cette tendance est confirmée en analyse multivariée. Ainsi, malgré l'ajustement sur l'âge, le sexe, la race et le vétérinaire sanitaire, l'effet laboratoire est maintenu avec les laboratoires B et C, moins à risque que le laboratoire A d'avoir des résultats INI (Tableau 5). Les causes de ces réactions INI étaient, dans la grande majorité des cas, liées à un défaut de production d'interféron pour les échantillons stimulés par le contrôle mitogène. La production d'interféron *in vitro* par les cellules sanguines des bovins camarguais étant reconnue pour être inférieure à celle d'autres races de bovins (Schiller *et al.*, 2009), il a été décidé d'opter pour un nouveau kit présentant une meilleure détectabilité (remplacement du kit BOVIGAM® par le kit ID-SCREEN® du laboratoire ID-vet). Les premiers résultats issus de ce changement de kit semblent montrer que les taux d'INI sont maintenant comparables entre les trois laboratoires.

Perspectives d'évolution du dépistage en élevage pour les années à venir

Les manades et ganaderias resteront en dépistage annuel pour encore cinq ans. Un allègement du rythme des dépistages pourra être envisagé après cette période dans la mesure où :

- des suspicions en IDS sont rapportées régulièrement chaque année, démontrant par là que la surveillance en élevage par IDS est convenablement réalisée;
- le dépistage IFN aléatoire (cf. infra) permettra de prouver que la prévalence annuelle des troupeaux infectés est inférieure à 1 %.

En effet, étant donné les difficultés qui subsistent dans la réalisation des IDS et cela malgré de nettes améliorations et des efforts à poursuivre sur le long terme, il paraît important de pouvoir maintenir et garantir une sensibilité du dépistage élevée, afin de ne pas risquer de laisser se développer la maladie dans certains élevages non encore détectés. Le test IFN sera donc utilisé dans certains élevages en alternative au dépistage par IDS qui restera cependant la règle.

Sous réserve de l'obtention de l'ensemble des co-financements nécessaires, il a été décidé de tester un cinquième de la population chaque année pendant cinq ans, sélectionné selon deux approches complémentaires :

- une approche aléatoire pour démontrer que la prévalence est inférieure à 1 %. Sous l'hypothèse d'une situation stable durant cette période, en dépistant 200 troupeaux par le test IFN, il sera possible d'apporter la preuve en cinq ans d'une prévalence élevage à moins de 1 %. En effet, considérant une population de 300 élevages et sous l'hypothèse d'une sensibilité de détection au niveau des élevages de 90 % et une spécificité de 100 % du test, en combinant le diagnostic ante et post-mortem, il faut qu'aucun élevage ne soit détecté infecté sur les 200 cheptels sélectionnés au hasard et testés pour garantir, avec une probabilité de 95 %, que la prévalence cheptel est de moins de 1 %. Le dépistage par IFN sera organisé en sélectionnant aléatoirement un cinquième des 200 cheptels nécessaires tous les ans;
- une approche ciblée pour augmenter les chances de détecter les derniers foyers ou des récidives dans des foyers assainis. Chaque année, une liste d'élevages à risque sera établie sur la base des critères suivants: anciens foyers (prioritairement les foyers assainis par abattage partiel), élevages en lien épidémiologique avec un foyer, élevages avec dépistages manquants ou partiels, élevages faisant abattre peu d'animaux (donc avec une surveillance en abattoir limitée).

Par ailleurs, les tests lors de vente resteront obligatoires par IDS et IFN pour tous les élevages de races Camargue et Brave avant tout mouvement vers un autre cheptel (vente, prêt, pension...) et les tests IFN (et sérologiques) seront également utilisés en parallèle à l'IDS lors des assainissements, permettant ainsi d'optimiser la sensibilité de détection en utilisant la complémentarité démontrée de ces différents tests (Vordermeier *et al*, 2004).

Conclusion

On peut considérer que la tuberculose est maintenant sous contrôle dans les élevages de races Camargue et Brave en Camargue, notamment grâce à l'amélioration du dépistage précoce en élevage par IDS et surtout grâce à l'utilisation du test IFN. Contrairement à d'autres régions, les performances du test sont telles qu'elles ne suscitent pas d'interrogation sur la pertinence de son utilisation. Après dix années de lutte, les acteurs de la filière restent mobilisés et un dispositif de surveillance pour les cinq prochaines années a été décidé au sein du comité de pilotage inter-régional. L'objectif est de garantir une prévalence en deçà de 1 % pour, à terme, envisager des allègements progressifs du dépistage en élevage.

Références bibliographiques

Cadorel S., 2008. Projet de protocole renforcé de lutte contre la tuberculose bovine dans les cheptels bovins de la zone Camargue. Service des affaires régionales vétérinaires de Languedoc-Roussillon.

Cagiola M., Feliziani F., Severi G., Pasquali P., Rutili D., 2004. Analysis of the possible factors affecting the specificity of the γ interferon test in

tuberculosis-free cattle herds. Clin. Diagn. S 11(5), 952-6.

Casal C., Diez-Guerrier A., Alvarez J., Rodriguez-Campos S., Mateos A., Linscott R., Martel E., Lawrence J.C., Whelan C., Clarke J., O'Brien A., Dominguez L., Aranaz A., 2014. Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. Vet Microbiol. 170(3-4),342-351.

Fediaevsky A., Courcoul A., Boschioli M.L., Réveillaud E., 2014. Tuberculose bovine en France en 2013: résultats d'une stratégie plus offensive. Bull. Epi. Santé Anim. Alim. 64, 4-11.

Keck N., 2010. Tuberculose bovine en Camargue: apports du test à l'interféron gamma. Le Point Vet. 309, 54-57.

Keck N., Tiffay M.C., Desvaux S., Smyej F., Boschioli M.L., Durand B., Vogler V., 2012. Bilan du dépistage généralisé de la tuberculose bovine par le test interféron gamma en Camargue. Le Point Vet. 329, 66-70.

Schiller I., Waters W.R., Vordermeier H.M., Nonnecke B., Welsh M., Keck N., Whelan A., Sigafosse T., Stamm C., Palmer M., Thacker T., Hardegger R., Raeber A., Oesch B., 2009. Optimization of a whole blood interferon γ assay for detection of *Mycobacterium bovis*-infected cattle. Clin. Vaccine Immunol. 16, 1196-1202.

Vordermeier M., Goodchild A., Clifton-Hadley R., de la Rua R., 2004. The interferon- γ field trial: background, principles and progress. Vet. Res.155, 37-38.

La brucellose des bouquetins du massif du Bargy (Haute-Savoie) : où en est-on en 2015 ?

Jean Hars (1)* (jean.hars@oncfs.gouv.fr), Séverine Rautureau (2), Amélie Vaniscotte (1), Jean-Philippe Herbaux (3), Jean-Jacques Pasquier (4), Aline Depecker (5), Valérie Le Bourg (5), Yvette Game (6), Carole Toigo (7), Virginie Mick (8), Bruno Garin-Bastuji (9)

(1) Office national de la chasse et de la faune sauvage, Unité sanitaire de la faune, Gières, France

(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

(3) Office national de la chasse et de la faune sauvage, Service départemental de Haute-Savoie, Sevrier, France

(4) Fédération départementale des chasseurs de Haute-Savoie, Villy Le Pelloux, France

(5) Direction départementale de la protection des populations de Haute-Savoie, Seynod, France

(6) Laboratoire départemental d'analyses vétérinaires de Savoie, Chambéry, France

(7) Office national de la chasse et de la faune sauvage, Centre national d'études et de recherche appliquée (CNERA) sur la faune de montagne, Gières, France

(8) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Unité Zoonoses bactériennes, LNR brucelloses/CNR des *Brucella*, Maisons-Alfort, France

(9) Anses, Direction des affaires européennes et internationales, Maisons-Alfort, France

* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé animale (Plateforme ESA)

Résumé

Suite aux cas humains et bovins autochtones de brucellose à *Brucella melitensis* biovar 3 dans le massif du Bargy (Haute-Savoie) en 2012, un fort taux de séropositivité de 38 % a été identifié en 2013 dans la population locale de Bouquetin des Alpes (56 % chez les animaux de plus de 5 ans ; 15 % chez les plus jeunes), confirmée par l'isolement de la même souche bactérienne sur les animaux abattus. En l'absence de tout facteur de risque extérieur, il a été très vite admis que le Bouquetin avait assuré un lien silencieux entre le dernier foyer domestique local datant de 1999 et le foyer bovin de 2012. S'est alors posée la question du risque représenté par ce réservoir sauvage de *B. melitensis*, phénomène jusqu'alors jamais décrit dans le monde, pour le cheptel domestique et pour la santé publique. L'abattage ciblé en octobre 2013 des animaux les plus âgés (les plus infectés) a eu pour conséquence une nette et significative augmentation de la prévalence chez les jeunes en 2014 (50 % ; IC95 [35,9-64,1]) alors que la prévalence chez les animaux plus âgés ne montrait pas d'évolution significative par rapport à 2013. L'indice de reproduction a ré-augmenté (0,39) sans pour autant atteindre le niveau observé sur d'autres massifs indemnes. Les déplacements entre massifs sont quant à eux restés anecdotiques, mais aucune donnée n'est disponible concernant l'évolution de l'infection sur les massifs voisins en 2014-2015. Les premiers résultats de 2015 semblent indiquer une situation tendant à la stabilisation dans le Bargy (42 % d'animaux séropositifs).

Mots-clés

Brucellose, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, *Rupicapra rupicapra*, réservoir sauvage, France

Abstract

Brucellosis outbreak in wild ungulates in the Bargy massif, Haute-Savoie, France: 2015 update

After the human and bovine autochthonous cases of brucellosis due to *Brucella melitensis* biovar 3 in the Bargy Massif (Haute-Savoie, France) which occurred in 2012, high level of seropositivity was identified in 2013 in the local Alpine ibex population (38%; 56% in animals over 5 years of age; 15% in youngsters), confirmed by isolation of the same bacterial strain in culled animals. In the absence of any external risk factor, it was rapidly assumed that ibex had provided a silent link between the last local domestic outbreak in 1999 and the 2012 bovine outbreak in the massif. The question then arose of the risk for domestic livestock and public health of this probable wild reservoir of *B. melitensis*, a situation never before described anywhere in the world. The targeted culling of the oldest (and most infected) animals in October 2013 resulted in a significant increase in prevalence of the disease in youngsters in 2014 (50%; CI 95 [35.9-64.1]) with no significant increase in the general population (44.9%; CI95 [35.2-54.6]). The reproduction index increased (0.39), but did not reach the level observed in other (disease-free) massifs. Movements between massifs remained isolated, but no data are available for 2014 and 2015 on the evolution of the disease in neighbouring massifs. The initial 2015 results seem to indicate that the situation is in the process of stabilising (overall seropositivity 42%).

Keywords

Brucellosis, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, *Rupicapra rupicapra*, Wildlife reservoir, France

En 2012, deux cas humains de brucellose, apparus dans la commune du Grand-Bornand (sud du massif du Bargy) ont été reliés quelques semaines plus tard à un foyer bovin (par consommation de fromage frais au lait cru) (Mailles *et al.*, 2012). L'enquête réalisée dans les élevages de la région a montré qu'ils étaient tous indemnes, sachant que le dernier foyer de brucellose chez les ruminants en Haute-Savoie avait été déclaré en 1999 dans une commune du nord du massif du Bargy (Le Reposoir). Pour trouver l'origine inexpliquée du foyer bovin de 2012, les regards se sont alors tournés vers la faune sauvage: *a-t-elle pu assurer un relais « silencieux », pendant plus de dix ans, entre les foyers domestiques de 1999 et 2012 ?*

Rappel de la situation épidémiologique observée en 2013

Les résultats des études sanitaires et populationnelles réalisées en 2013 chez les ongulés sauvages du massif du Bargy et des massifs voisins ont été présentés dans un précédent article (Hars *et al.*, 2013) dont nous résumons ici les conclusions.

Un réservoir de la maladie a été découvert dans la population de bouquetins du Bargy qui présentait un fort taux de séropositivité de 38 %⁽¹⁾ (Tableau 1). Les animaux âgés de six ans et plus, avec une prévalence apparente de 56 % (atteignant 72 % chez les femelles), étaient beaucoup plus touchés que les animaux jeunes chez lesquels la séroprévalence était de 15 % (Figure 1a; Tableau 2). *Brucella melitensis* biovar 3 (bv.3) a été isolée sur seize des 37 animaux autopsiés après abattage (car séropositifs ou porteurs de signes cliniques d'arthrite ou d'orchite) à partir de nœuds lymphatiques, fluides ou organes, dont plusieurs étaient indicateurs d'une excrétion potentielle (urine, prépuce, testicule, vagin...). Toutes les souches de *B. melitensis* bv.3 isolées depuis 1999 dans le massif du Bargy chez les animaux domestiques, chez l'Homme et dans la faune sauvage appartiennent au même clone génotypique, ce qui permet d'affirmer l'existence d'un lien épidémiologique très étroit entre les différents cas (Garin-Bastuji *et al.*, 2014; Mick *et al.*, 2014).

(1) Les taux de séropositivité sont calculés sur l'échantillon de bouquetins capturés de manière aléatoire (n=77 en 2013; n=78 en 2014, n=83 en 2015), à l'exclusion des quelques animaux abattus directement pour cause de signes cliniques.

Tableau 1. Bilan des captures et des opérations de surveillance clinique renforcée réalisées sur les bouquetins en 2012-2013

Massif	Animaux suspects cliniques abattus (Nb)	Animaux capturés et testés (Nb)	Animaux séropositifs (Nb)	Taux de séropositivité (en %) [IC95 %]
Bargy	8	77	29	38 [28-48]
Aravis	0	60	0	0 [0-5]
Sous-Digne	0	30	0	0 [0-8]

Tableau 2. Comparaison des taux de séropositivité 2013 et 2014 (n = effectif de population estimé)

	Taux de séropositifs (en %) [IC 95 %]		Différence (Test Chi ²)
	2013 (n=567 [487-660])	2014 (n=310 [275-352])	
≥ 6 ans	56 [42,3 - 69,7]	41,6 [27 - 52]	Non significative
< 6 ans	15 [4,3 - 25,7]	50 [35,9 - 64,1]	Significative



Figure 3. Femelle bouquetin télé-anesthésiée dans le massif du Bargy, équipée d'un collier émetteur GPS et test de dépistage rapide

La contamination chez le Bouquetin se ferait principalement par voie vénérienne, car les plus fortes proportions d'animaux séropositifs correspondent aux animaux âgés de six ans et plus participant effectivement à la reproduction. Ceci n'exclut pas la classique voie de contamination par contacts avec des produits d'avortements brucelliques au sein de la population de bouquetins, mais cela pourrait expliquer la rareté des transmissions interspécifiques qui doivent nécessiter par ailleurs un concours de circonstances rare sur le terrain. On n'a, en effet, enregistré, à ce jour, aucun animal séropositif chez les cervidés testés depuis 2012 (96 chevreuils et 70 cerfs), seulement deux chamois séropositifs parmi 235 testés et un seul foyer bovin⁽²⁾.

La population de bouquetins était vieillissante; elle présentait une pyramide des âges inversée avec 68 % d'animaux âgés de six ans et plus (Figure 2a) et un indice de reproduction de 0,23 cabri/femelle adulte. Ce très faible indice, plus faible que celui enregistré la même année dans la population de Vanoise par exemple (0,36), pouvait être attribué en partie à la brucellose mais aussi à une situation de forte densité-dépendance (phénomène de saturation avec l'augmentation de la densité d'une population dans son milieu entraînant une diminution des performances démographiques de survie et de reproduction) et à un hiver extrêmement long et enneigé en 2013.

(2) Sur 85 cheptels « exposés » et testés régulièrement en sérologie et dépistage ELISA sur lait de tank depuis 2012.

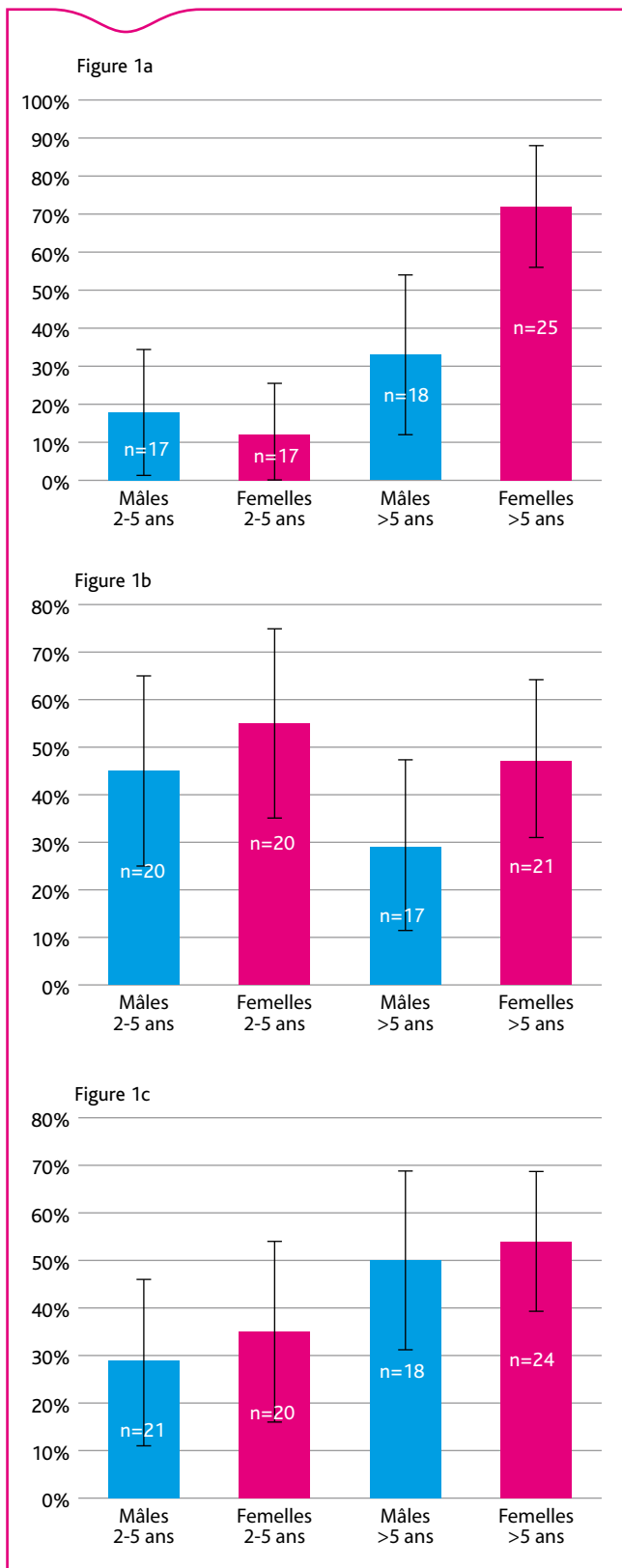


Figure 1. Répartition de la séroprévalence dans la population de bouquetins du massif du Bargy en fonction du sexe et de l'âge des animaux (et intervalle de confiance à 95 %) en 2012-2013 (figure 1a) en 2014 (figure 1b), en 2015 chez les 83 bouquetins capturés pour la première fois en 2015 (données au 5 juin) (figure 1c)

Les effectifs ont été estimés à 567 individus (IC 95 %; 487-660), par méthode de capture-marquage-recapture (CMR) appliquée aux animaux marqués, identifiés lors de sept itinéraires pédestres standards répétés deux fois par mois de juin à septembre. Le suivi télémétrique réalisé sur 23 animaux équipés de colliers GPS (Global Positioning System) dans le Bargy (Figure 3) et 69 animaux équipés de colliers VHF (Very High Frequency) dans les trois massifs (le Bargy et

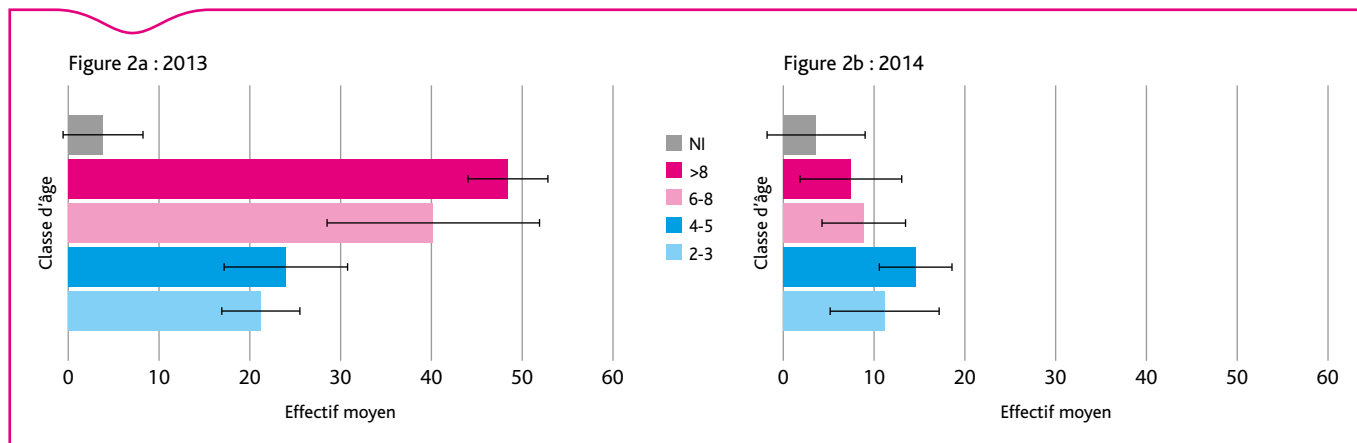


Figure 2. Effectifs moyens par classe d'âge (en années) et écart-type pour l'échantillon de mâles observés lors des différents itinéraires pédestres effectués en 2013 (a) et 2014 (b)
NI: non identifié

les deux massifs voisins des Aravis et de Sous-Digne) n'avait pas révélé de déplacements entre massifs en 2013. Il avait permis de démontrer une fréquentation des pâtures bovines par les bouquetins surtout entre mai et juin, période des mises bas ou d'éventuels avortements, mais des possibilités de contacts directs entre domestiques et sauvages qui restent rares et réparties de manière hétérogène entre les différents alpages.

Enfin, les bouquetins capturés en 2013 dans les massifs voisins des Aravis (n=60) et de Sous-Digne (n=30) étaient tous séronégatifs (Tableau 1), ce qui, sans pouvoir affirmer qu'ils sont indemnes, garantit que ces massifs sont à coup sûr beaucoup moins touchés que le massif du Bargy (prévalences respectives inférieures à 5 et 8 %).

Première décision de gestion

Face à la gravité de la situation révélant un réservoir sauvage de brucellose chez les bouquetins du Bargy qui était passé inaperçu, sans doute pendant plus de dix ans, il a été décidé, après arbitrage interministériel en septembre 2013, de procéder à un abattage ciblé de la population visant à éliminer tous les bouquetins âgés de cinq ans et plus, correspondant aux classes d'âges les plus infectées. Au mois d'octobre 2013, 233 bouquetins étaient ainsi abattus en trois journées d'opérations.

Évolution de la situation en 2014

En 2014, les études sanitaires et populationnelles ont été poursuivies suivant les mêmes protocoles et plan d'échantillonnage qu'en 2013 (Hars *et al.*, 2015).

Sur le plan sanitaire

Entre avril et juin 2013, sur 78 bouquetins (40 « jeunes » et 38 « vieux ») non testés en 2012-2013, le taux d'animaux séropositifs était de 44,9 %.

La quasi-totalité des classes d'âge étaient infectées, en particulier les jeunes. En effet, 20 animaux jeunes sur 40 testés étaient séropositifs (prévalence apparente = 50 % - Figure 1b; Tableau 2). Dans la plupart des cas, les réactions sérologiques étaient très élevées (Yvette Game, com. pers.).

Par ailleurs, en plus de ces 78 animaux, dix animaux porteurs de collier GPS et donc séronégatifs en 2013 (8 ≥ 6 ans et 2 < 6 ans) ont été recapturés pour changer leurs batteries; un seul individu, un mâle âgé de cinq ans, était séropositif et présentait une double arthrite des carpes et une orchite développées récemment, sans doute après la période de rut de décembre 2013. La maladie a ainsi évolué chez cet animal en quelques mois, avec l'apparition rapide de graves signes cliniques. Par contre, ces résultats semblent confirmer (sous réserve

de la petite taille de l'échantillon testé) que les animaux âgés de plus de cinq ans ont peu séroconverti entre 2013 et 2014, à la différence des jeunes (Tableau 2).

Sur 27 animaux abattus car séropositifs, les analyses bactériologiques effectuées systématiquement ont conduit à l'isolement de *Brucella* chez une vingtaine d'animaux (11 femelles et 9 mâles) et, chez huit d'entre eux, à partir de trois sites ganglionnaires ou organes, ou plus, signant une brucellose systémique.

On notera qu'en 2014, un test de dépistage sérologique rapide de la brucellose (Kit Anigen Rapid GS *Brucella* Ab Test/Bionote, Rép. Corée) donnant un résultat en quelques minutes a été utilisé sur le terrain, en parallèle des tests EAT/FC en laboratoire, pour validation par l'Anses. Les résultats ont montré une corrélation de 100 % entre le test rapide et les analyses sérologiques RB/FC sur les 88 bouquetins testés (Corde *et al.*, 2014).

Sur le plan populationnel

En 2014, les observations faites lors des itinéraires pédestres estivaux ont permis d'estimer les effectifs par CMR à 310 individus (IC 95 %; 275-352), contre 567 en 2013. Ce chiffre est cohérent si l'on tient compte des animaux abattus (dans le cadre du suivi épidémiologique et lors des opérations d'abattage d'octobre 2013) et du recrutement par les naissances de 2014.

La population s'est logiquement « rajeunie » par rapport à 2013, suite à l'abattage ciblé des individus de plus de cinq ans (Figure 2b). L'indice de reproduction est passé de 0,23 en 2013 à 0,39 en 2014. Les conditions météorologiques plus clémentes de l'hiver 2014 expliquent sans doute une telle différence. Ce taux de 0,39 est plus proche, tout en restant inférieur, des taux observés dans d'autres massifs pour des populations anciennes, en phase de densité-dépendance (Toigo *et al.*, 2002) et dans des conditions météorologiques et nivologiques normales. Cette persistance d'un faible taux de reproduction peut être partiellement due à la déstructuration brutale de la population juste avant le rut de décembre 2013. L'impact de la brucellose sur le succès reproducteur est donc toujours difficile à quantifier.

Concernant les déplacements, sur l'ensemble des données GPS récoltées après l'abattage d'octobre 2013, aucune localisation des 23 animaux équipés au total dans le Bargy n'a été enregistrée hors du massif. En revanche, entre l'hiver 2013 et 2014, deux des 93 animaux équipés de colliers sur les trois massifs ont effectué des déplacements entre les massifs des Aravis et du Bargy. Un mâle (neuf ans) équipé en 2013 d'un VHF dans les Aravis s'est déplacé dans le Bargy. Il avait déjà effectué un aller-retour entre les deux massifs entre décembre 2013 et avril 2014. Un autre mâle (douze ans) sur les 35 animaux alors équipés GPS/VHF dans le Bargy a effectué le trajet dans le sens opposé (Bargy vers Aravis) en décembre 2014. Aucun déplacement de masse depuis les massifs adjacents vers le Bargy ou inversement n'a donc été détecté après l'abattage de 2013.

Les déplacements entre les Aravis et le Bargy sont donc avérés, d'autant plus que le passage de bouquetins par le corridor Almet-Col des Annes a été précédemment rapporté (J.J. Pasquier, com. perso), mais ils restent rares à ce jour et semblent ne concerner que quelques individus isolés (sans doute le plus souvent des mâles en phase exploratoire pour la reproduction). Ceci est cohérent avec le fait que les massifs des Aravis et de Sous-Digne soient pas ou peu touchés suite aux prélèvements effectués en 2013 alors qu'ils voisinent le massif du Bargy très infecté... mais jusqu'à quand le resteront-ils ?

Enfin, le schéma de fréquentation des pâtures, déterminé par les suivis GPS et les itinéraires pédestres, a peu changé en 2014 hormis une chute légèrement plus rapide des fréquentations au printemps, explicable par un enneigement moins persistant qu'en 2013.

Discussion

La stratégie de lutte mise en œuvre en 2013 a-t-elle été efficace ? Cette stratégie a permis de faire nettement diminuer le nombre d'animaux séropositifs dans le massif, donc de réduire le nombre d'animaux excréteurs et de fait, le risque de transmission de la brucellose depuis le Bouquetin vers d'autres espèces. L'épidémiologie en faune sauvage est entachée de nombreuses incertitudes liées entre autres à la méconnaissance des populations étudiées et aux difficultés d'échantillonnage (Hars et Garin-Bastuji, 2015). Toutefois, on peut affirmer que dans le Bargy, la situation sanitaire ne s'est globalement pas améliorée en 2014 et qu'elle s'est très significativement aggravée chez les jeunes (Tableau 2). Cette aggravation pourrait être liée à une entrée en reproduction beaucoup plus précoce des jeunes animaux, suite à la disparition d'une grande partie (une opération de dénombrement d'animaux en décembre 2013 a révélé la présence de 90 animaux de plus de 5 ans qui avaient échappé aux abattages d'octobre et s'étaient regroupés au moment du rut) des classes d'âge dominantes après les abattages. Ces vieux animaux « rescapés » ont pu entrer en contact avec les jeunes (mâles et femelles) chez lesquels la maladie a explosé. On remarquera l'ampleur et la rapidité du phénomène après une seule saison de rut, touchant aussi bien les femelles que les mâles (Figure 1b).

Si l'on tient compte de surcroît des résultats bactériologiques, on peut conclure que la brucellose circulait encore très activement en 2014 dans la population de bouquetins du Bargy.

Cet état des lieux démontre clairement l'incertitude auquel le gestionnaire est confronté quant aux conséquences quasi-immédiates et parfois imprévisibles de mesures de gestion sanitaire prises dans une population sauvage.

Premiers résultats des études 2015

En premier lieu, la surveillance des espèces chassables réalisée lors de la saison 2014-2015, sur le même schéma que les années précédentes, n'a révélé ni signes cliniques ni animaux séropositifs sur 81 chamois, 31 chevreuils et 14 cerfs testés.

En second lieu, dans le but de poursuivre l'épidémiologie et de renforcer le suivi télémétrique des bouquetins du Bargy, une nouvelle campagne de captures a été réalisée aux mois d'avril-mai-juin 2015. Les bouquetins positifs au test rapide ont été euthanasiés sur place par injection intraveineuse d'Embutramide (T61.ND) et évacués. Les 103 animaux capturés se répartissent de la manière suivante :

Sur 83 animaux capturés pour la première fois, 42 % étaient séropositifs. La Figure 4 montre que toutes les classes de deux à dix ans étaient touchées. La Figure 1c montre que la répartition de la séroprévalence en 2015 entre jeunes animaux (31,7 % ; IC 95 % = [28,2-47,8]) et « vieux » (52,4 % ; IC 95 % = [40,7-64,1]) semble, en première approche, s'inverser par rapport aux résultats de 2014 (Figure 1b), mais chez les jeunes animaux la différence entre les séroprévalences de 2014 et 2015 n'est pas statistiquement significative (chevauchement des intervalles de confiance: [35,9 - 64,1] et [28,2-47,8] cf. Tableau 2) tandis que chez les « vieux » la situation semble stable depuis 2013.

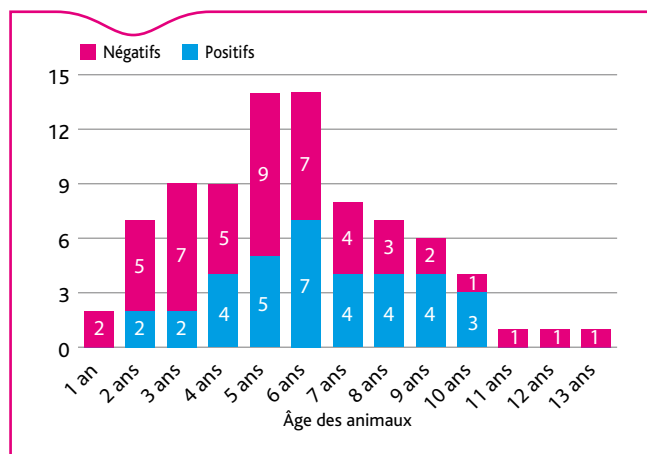


Figure 4. Séroprévalence par classe d'âge des bouquetins capturés dans le Bargy en 2015 (données au 5 juin 2015, sur les 83 animaux capturés pour la première fois)

Sur vingt animaux recapturés car déjà porteurs de colliers depuis 2013 ou 2014, deux animaux étaient séropositifs, soit une proportion identique à celle observée sur les bouquetins recapturés en 2014. Et, comme en 2014, l'un d'entre eux, un mâle de quatre ans présentait une double arthrite et une orchite suppurée ouverte laissant s'écouler dans le milieu extérieur du pus brucellique, lésion jamais observée jusqu'alors et qui s'est développée en quelques mois. Les résultats des analyses bactériologiques de 2015 ne sont pas disponibles à la date de rédaction de cet article.

Conclusion

La découverte chez une espèce protégée d'un réservoir de brucellose, maladie réglementée et éradiquée dans les élevages français depuis 2003, est un phénomène inédit. L'ensemble du programme d'études entrepris en 2012 apporte les éléments indispensables à la gestion très délicate d'un dossier où se confrontent des enjeux forts de santé publique et animale, économiques, ainsi qu'un enjeu de conservation concernant une espèce protégée (même si elle n'est pas menacée). L'abattage ciblé des tranches d'âge des bouquetins les plus infectées en 2013 a diminué significativement le nombre d'animaux séropositifs présents dans le massif du Bargy, mais n'a pas permis d'améliorer la situation qui était globalement stable en 2014 et s'était même aggravée chez les jeunes animaux. En 2015, la situation ne s'est toujours pas améliorée. Ceci montre une fois de plus que l'éradication d'une maladie contagieuse installée dans la faune sauvage est un exercice très complexe. L'avis de l'Anses publié en juillet 2015 réévaluant les risques et les différentes stratégies de lutte envisageables apporte un éclairage pour le choix de futures nouvelles mesures restant à arbitrer.

Remerciements

Les auteurs remercient les agents de l'ONCFS des services départementaux de Savoie et de Haute-Savoie pour l'énorme travail effectué sur le terrain, de la Délégation inter-régionale Alpes-Méditerranée-Corse et du CNERA Faune de montagne dont Philippe Gibert; les chasseurs et leur fédération départementale de Haute-Savoie; les personnels des laboratoires d'analyses (LIDAL de Haute-Savoie et Lдав de Savoie) et du LNR de l'Anses; Dominique Gauthier du Lдав des Hautes-Alpes; les agents de la DDPP de Haute-Savoie, en particulier Jean-Marie Le Horgne et Joëlle Vernay; les agents de la DDT de Haute-Savoie; les stagiaires qui ont participé aux opérations de terrain et à l'interprétation des données, en particulier Pauline Freycon; les vétérinaires praticiens qui ont participé aux opérations de terrain; les membres de l'association Asters qui ont participé aux suivis pédestres; le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, le Conseil départemental de la Haute-Savoie, les communautés de communes des vallées de Thônes, de Faucigny-Glières et de Cluses-Arve et Montagnes qui ont cofinancé ces études.

Références bibliographiques

- Corde Y., Drapeau A., Game Y., Maucci E., Hars J., Jaÿ M., Garin-Bastuji B. 2014. A rapid test for identifying *B. melitensis* infection in an Alpine ibex (*Capra ibex*) reservoir in the French Alps. Proceedings of the Brucellosis 2014 International Research Conference, Berlin, Allemagne, 9-12 septembre 2014, P132, 221.
- Garin-Bastuji B., Hars J., Drapeau A., Cherfa M.A., Game Y., Le Horgne J.M., Rautureau S., Maucci E., Pasquier J.J., Jaÿ M., Mick V. 2014. Re-emergence of *Brucella melitensis* in wildlife, France. *Emerg Inf Dis*, 20: 1569-1570.
- Hars J., Rautureau S., Jaÿ M., Game Y., Gauthier D., Herbaux J.P., Le Horgne J.M., Maucci E., Pasquier J.J., Vaniscotte A., Mick V., Garin-Bastuji, B. 2013. Un foyer de brucellose chez les ongulés sauvages du massif du Bargy en Haute-Savoie. *Bull Epid Santé Anim Alim* 60: 2-7.
- Hars J., Vaniscotte A., Game Y., Toigo C., Depecker A., Garin-Bastuji B. 2015. Surveillance et gestion d'un foyer de brucellose chez le bouquetin dans le massif du Bargy (Haute-Savoie), *Revue ONCFS Faune Sauvage*, 306: 11-20.
- Hars J. & Garin-Bastuji B. 2015. Incertitudes sur la situation épidémiologique d'une maladie animale: la brucellose dans le massif du Bargy (Haute-Savoie), *Epidémiol. Santé Anim.*, Sous presse
- Mailles A., Rautureau S., Le Horgne J.M., Poignet-Leroux B., d'Arnoux C., Dennetierre G., Faure M., Lavigne J.P., Bru J.P., Garin-Bastuji B. 2012. Re-emergence of brucellosis in cattle in France and risk for human health. *Euro. Surveill.*, Vol. 17(30): pii = 20227.
- Mick V., Le Carrou G., Corde Y., Game Y., Jaÿ M., Garin-Bastuji B. 2014. *Brucella melitensis* in France: persistence in wildlife and probable spillover from Alpine ibex to domestic animals. *PLoS One*, 9(4):e94168.
- Toigo C., Gaillard J.M., Gauthier D., Girard L., Martinot J.P., Michallet J. 2002. Female reproductive success and costs in an alpine capital breeder under contrasting environments. *Ecoscience* 9: 427-433.

Résabeilles : résultats de deux campagnes de surveillance programmée de la mortalité des abeilles en France

Pascal Hendrikx (1)* (pascal.hendrikx@anses.fr), Mathilde Saussac (1), Faycal Meziani (2)*, Sébastien Wendling (2), Stéphanie Franco (3), Marie-Pierre Chauzat (1, 3)

Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Maisons-Alfort, France

Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Anses, Laboratoire de Sophia-Antipolis, Unité de pathologie des abeilles, Sophia-Antipolis, France

* Membre de l'équipe opérationnelle de la Plateforme ESA

Résumé

Résabeilles est la déclinaison française du programme européen de surveillance de la mortalité des abeilles Epilobee conduit dans dix-sept États membres de 2012 à 2014. Environ 300 ruchers ont fait l'objet de trois visites (automne, printemps et été) au cours de chacune des deux campagnes du programme. La mortalité hivernale a été autour de 14 % et la mortalité en saison apicole autour de 11 % à chaque campagne. Les observations cliniques et prélèvements réalisés ont permis de montrer la présence quasi systématique d'une infestation par le varroa et la présence de signes cliniques de varroose dans un quart à un tiers des ruchers à l'automne. Le nombre de suspicions cliniques de nosérose est apparu très faible. La prévalence clinique de loque américaine a baissé régulièrement au cours du programme passant de 11,66 % au cours de l'automne 2012 à moins de 1 % au cours de l'été 2014. La loque américaine a connu la même évolution en passant de 7,58 % à moins de 2 %. La prévalence clinique de la paralysie chronique était faible, toujours inférieure à 1,3 %. Actuellement arrêté, le programme européen pourrait reprendre avec l'inclusion de la recherche de la contamination par des pesticides dans les ruchers visités comme cela a été testé lors de la dernière année de Résabeilles.

Mots-clés

Abeilles, surveillance, mortalité, France, Résabeilles, Epilobee

Abstract

Résabeilles: Results of two campaigns of active honeybee colony mortality surveillance in France
Résabeilles is the French version of Epilobee, the European bee mortality surveillance program that was conducted in 17 Member States from 2012 to 2014. Around 300 hives were visited three times (fall, spring and summer) during each of the two campaigns of the program. Winter mortality was around 14% and in-season mortality around 11% in each campaign. The clinical observations and samples taken showed the almost systematic presence of varroa infestation and the presence of clinical signs of varroosis in a quarter to a third of all apiaries during the fall. The number of clinical suspicions of nosemosis was very low. The prevalence of clinical AFB (American Foulbrood) fell steadily over the program from 11.66% in autumn 2012 to less than 1% during the summer of 2014. EFB (European Foulbrood) showed the same trend, falling from 7.58% to less than 2%. The clinical prevalence of chronic paralysis was low, consistently less than 1.3%. Currently suspended, the European program could start up again with the inclusion, as in the last year of Résabeilles, of investigations into pesticide contamination in visited apiaries.

Keywords

Honeybee, Surveillance, Mortality, France, Résabeilles, Epilobee

À la suite d'une étude des dispositifs de surveillance de la mortalité des abeilles en Europe conduite sous l'égide de l'Efsa (Efsa, 2009), la Commission européenne a mandaté le laboratoire de l'Anses à Sophia-Antipolis, laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE), pour élaborer et coordonner un dispositif de surveillance programmée de la mortalité des abeilles. Ce dispositif, appelé Epilobee, cofinancé par la Commission européenne, a été mis en place dans dix-sept pays de l'Union européenne au cours de deux campagnes successives (une campagne s'étendant de l'automne à l'été suivant) entre 2012 et 2014.

En France, Epilobee a été dénommé Résabeilles et a été mis en place dans six départements. Cet article présente une synthèse des résultats exploités à ce jour dans le cadre de ce programme.

Matériel et méthode

Les départements impliqués dans Résabeilles étaient les Bouches-du-Rhône, le Cantal, la Drôme, le Finistère, le Haut-Rhin et l'Indre-et-Loire (Figure 1). Ils ont été choisis pour représenter différentes conditions de production apicole en France et en raison de la motivation des services vétérinaires et des organisations professionnelles à s'impliquer dans ce programme.

La surveillance était fondée sur la sélection aléatoire de 66 ruchers par département dans lesquels étaient réalisées trois visites: une à l'automne avant l'entrée en hivernage, une au printemps et une en cours de saison apicole, l'été. Une partie de l'échantillon d'apiculteurs a été renouvelée entre les deux campagnes afin de limiter tant que faire se peut l'effet potentiellement bénéfique des visites, qui

pourrait biaiser les résultats dans le temps. Dans chaque rucher, un maximum de quatorze colonies étaient sélectionnées au hasard lors de la première visite (pour atteindre l'objectif d'avoir 95 % de chances de détecter un phénomène touchant au moins 20 % des colonies du rucher) puis inspectées à chaque visite pour vérifier leur

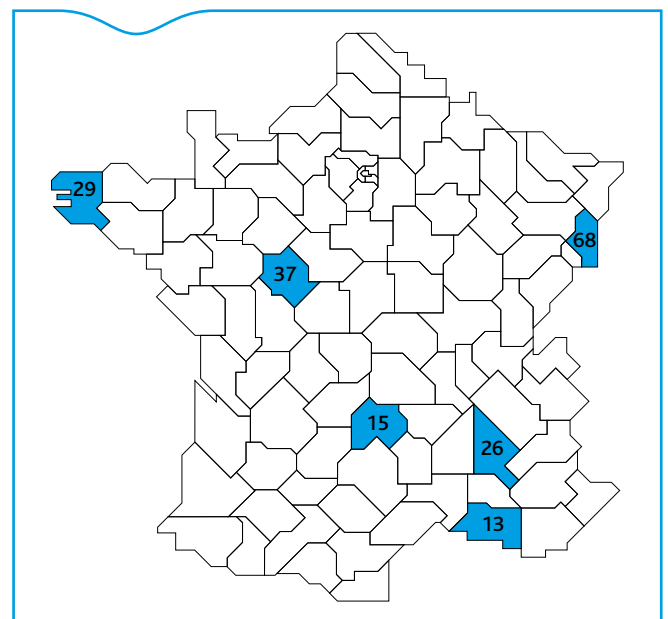


Figure 1. Départements ayant participé au programme Résabeilles de 2012 à 2014

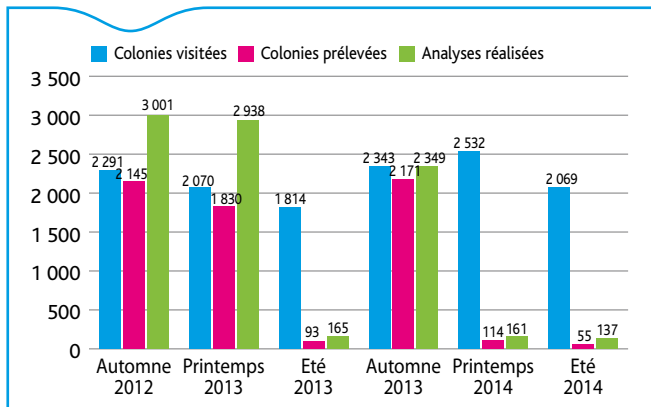


Figure 2. Colonies visitées, prélevées et analyses réalisées au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014

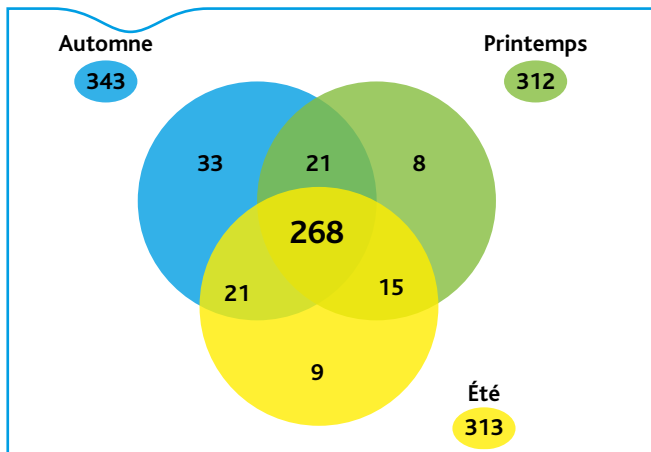


Figure 3. Nombre de ruchers visités une, deux ou trois fois pendant la campagne 2012-2013

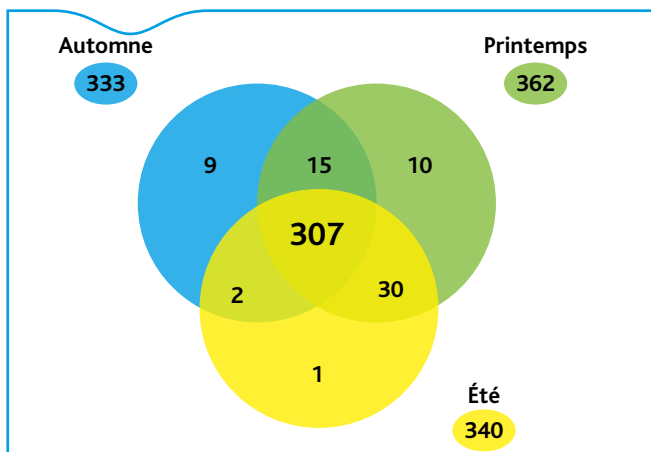


Figure 4. Nombre de ruchers visités une, deux ou trois fois pendant la campagne 2013-2014

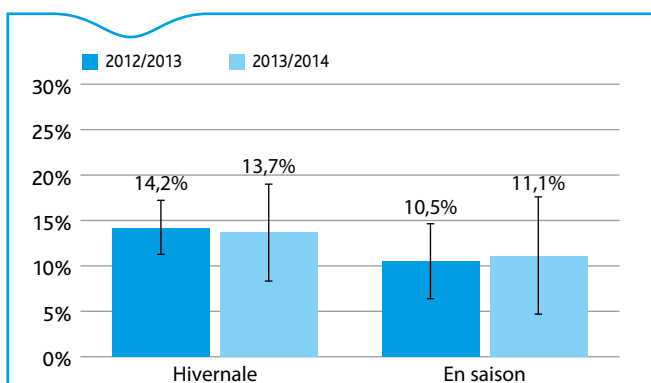


Figure 5. Taux de mortalité hivernale et en saison (et intervalles de confiance à 95 %) des colonies d'abeilles au cours de deux campagnes du programme Résabeilles

état (vivantes ou mortes) et la présence éventuelle de signes cliniques pouvant signifier l'atteinte par une maladie. Lors de certaines visites, des prélèvements systématiques ont été réalisés pour mettre en évidence la présence d'agents pathogènes (*Varroa destructor* lors des visites d'automne 2012 et 2013, *Nosema* lors de la visite de printemps 2013) ou de xénobiotiques (prélèvements de miel et de pain d'abeille à l'automne 2013). Lorsque des signes cliniques de maladies étaient mis en évidence dans une colonie, des prélèvements étaient réalisés pour en déterminer l'étiologie. Une fiche de commémoratifs était renseignée à chaque visite pour recueillir des informations générales sur l'élevage et sur les événements ayant touché le rucher. Les visites étaient réalisées par des binômes d'agents sanitaires apicoles formés à cet effet dans le cadre du programme. Les analyses biologiques ont été réalisées dans six laboratoires départementaux et au laboratoire national de référence (LNR) de l'Anses à Sophia-Antipolis. L'ensemble du programme était coordonné à l'échelon national par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) et au niveau local par les directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP). Des détails complémentaires sur le protocole sont consultables dans plusieurs publications (Bendali *et al.*, 2014a; Laurent *et al.*, 2015).

Résultats

Visites et prélèvements

Le nombre de colonies visitées, prélevées et analysées à l'automne, au printemps et durant l'été est comparable pour les deux campagnes d'échantillonnage au niveau national (Figure 2). On observe cependant une nette diminution du nombre de colonies prélevées et analysées au printemps de la deuxième campagne (2014) correspondant à l'arrêt de l'échantillonnage systématique d'abeilles vivantes conduit au printemps 2013; cet échantillonnage systématique était réalisé afin d'estimer la présence de spores de *Nosema* et d'identifier l'espèce (*Nosema ceranae* ou *Nosema apis*). Les colonies prélevées et échantillonnées au printemps 2014 et au cours des deux étés (2013 et 2014) correspondent uniquement à des suspicions de maladies. Ces prélèvements n'ont été réalisés que sur des colonies présentant des signes cliniques. Le nombre important de prélèvements à l'automne correspond à l'évaluation de l'infestation des colonies par varroa.

Au niveau national, le nombre de ruchers visités trois fois a augmenté entre la première et la deuxième année, passant de 268 à 307, ce qui montre un net progrès dans la réalisation du plan d'échantillonnage (Figures 3 et 4). On note que 157 ruchers ont été visités pendant les deux années consécutives (ce nombre est plus faible en raison du renouvellement partiel de l'échantillon d'apiculteurs entre les deux campagnes).

Mortalité

Au niveau national, la mortalité hivernale était équivalente entre les campagnes 2012-2013 et 2013-2014: respectivement 14,2 % (calculée sur 236 ruchers) et 13,7 % (calculée sur 276 ruchers), la différence

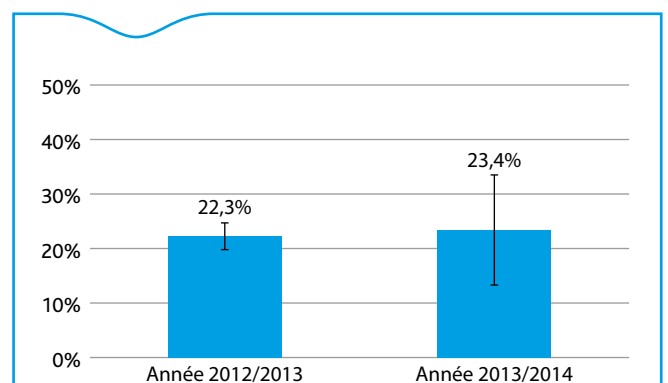


Figure 6. Taux de mortalité globale des colonies d'abeilles (et intervalles de confiance à 95 %) au cours de deux campagnes du programme Résabeilles

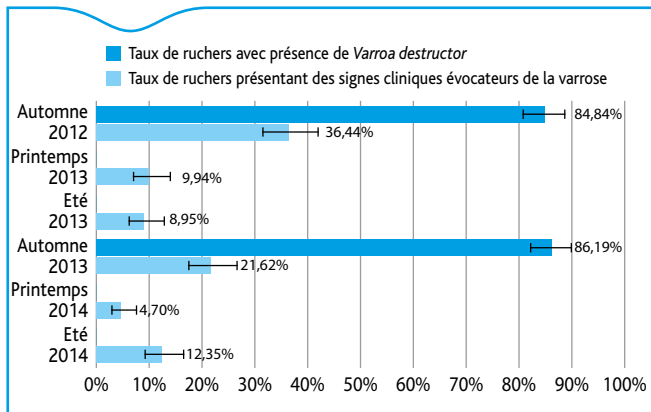


Figure 7. Évolution de la varroose clinique (et intervalles de confiance à 95 %) dans les ruchers visités au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014 et taux de ruchers avec présence de *Varroa destructor* (et intervalles de confiance à 95 %) à l'automne 2012 et à l'automne 2013 (les comptages varroa n'ont pas été réalisés lors des autres saisons)

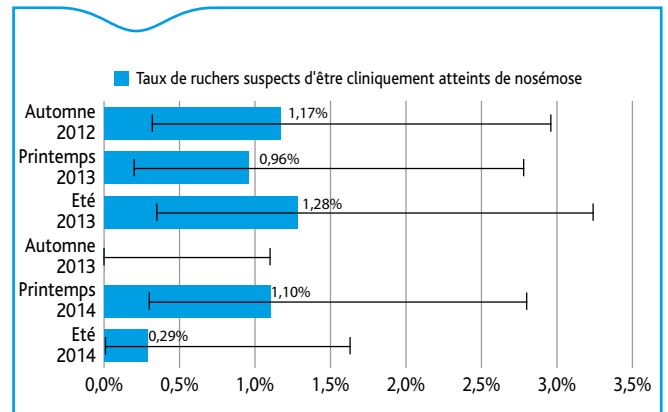


Figure 8. Évolution de la prévalence clinique de la nosérose (et intervalles de confiance à 95 %) dans les ruchers visités au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014

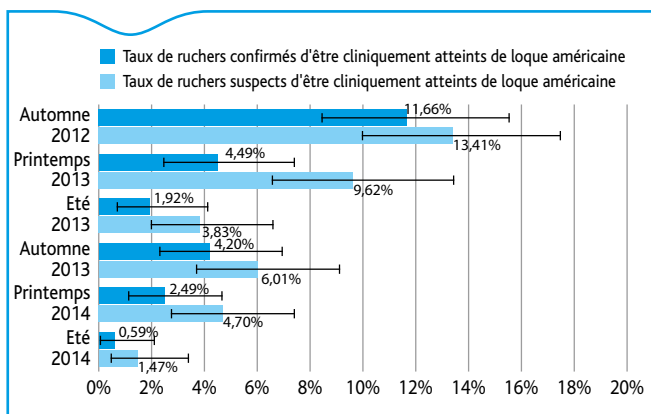


Figure 9. Évolution de la prévalence clinique de la loque américaine (et intervalles de confiance à 95 %) dans les ruchers visités au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014

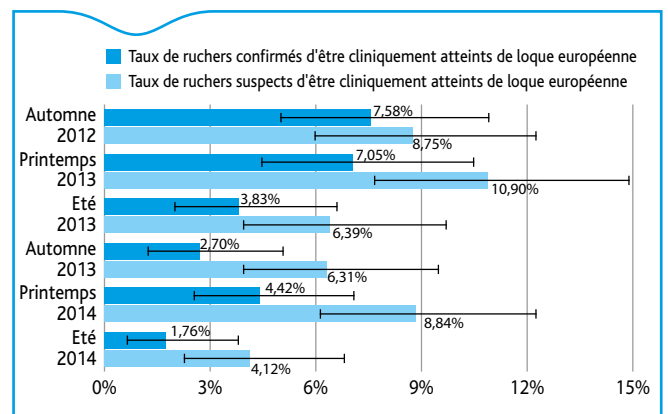


Figure 10. Évolution de la prévalence clinique de la loque européenne (et intervalles de confiance à 95 %) dans les ruchers visités au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014

étant non significative statistiquement (test du Chi2) (Figure 5). La mortalité en saison est également similaire entre les deux années (différence non significative statistiquement) : respectivement 10,5 % (calculée sur 182 ruchers) à 11,1 % (calculée sur 256 ruchers) de pertes pour 2012-2013 et 2013-2014. Ainsi, le taux de mortalité global par campagne au cours du programme Résabeilles est équivalent entre 2012-2013 (22,3 %) et 2013-2014 (23,4 %), la différence n'étant pas statistiquement significative (Figure 6). La mortalité a cependant été plus variable entre les ruchers pour la seconde année que pour la première. Ce taux de mortalité globale est calculé uniquement dans les ruchers visités du début (automne) à la fin (été) du programme en considérant les colonies mortes au printemps et à l'été.

Varroose

La proportion de ruchers avec présence de varroa et présentant des signes cliniques évocateurs de la varroose ne varie pas d'une campagne à l'autre (différence non significative statistiquement) (Figure 7). Les signes cliniques sont observés dans une plus grande proportion de ruchers à l'automne (36,4 % et 21,6 % en 2012 et 2013 respectivement) comparé aux autres saisons. Le comptage des acariens sur les abeilles vivantes échantillonnées à l'automne montre que la plupart des colonies sont porteuses de *Varroa destructor*. Sur la base des critères d'échantillonnage (300 abeilles prélevées par colonie et nombre de colonies aléatoirement prélevées par rucher) l'absence de détection de varroa dans une colonie signifie que moins de 1 % des abeilles de la colonie sont parasitées. L'absence de détection de varroa dans un rucher signifie que moins de 20 % des colonies du rucher sont parasitées (au-dessus du seuil de 1 % des abeilles de la colonie).

Nosérose

Le nombre de suspicions cliniques de nosérose au niveau national est resté très faible pendant les deux années d'échantillonnage (moins de 1,3 % des ruchers visités) avec des suspicions de cas plus fréquentes à l'automne et durant l'été de la première campagne (Figure 8). Les suspicions n'ont pas pu être confirmées au laboratoire car soit aucun prélèvement n'a été réalisé, soit les prélèvements réalisés n'étaient pas appropriés pour la confirmation de la nosérose. Les prélèvements systématiques réalisés au printemps 2013 pour la recherche de *Nosema* avaient donné 82,7 % de résultat positifs. Tous les échantillons positifs ont été typés et les résultats montrent que l'espèce *N. ceranae* est présente dans près de 96 % des ruchers infectés en France.

Loques

La prévalence clinique de la loque américaine dans les ruchers étudiés est restée inférieure à 12 % (automne 2012) pendant les deux années d'échantillonnage (Figure 9). Il est intéressant d'observer que la prévalence clinique de cette maladie a diminué de façon constante, la prévalence la plus basse étant enregistrée lors de l'été 2014 (0,6 %). Les prévalences cliniques de la loque européenne sont inférieures à 8 % au cours des deux années (Figure 10) et ne diffèrent pas significativement d'une année à l'autre.

Paralysie chronique

Le nombre de suspicions cliniques de paralysie chronique est resté faible pendant les deux années d'échantillonnage et pour toutes les saisons (Figure 11). La prévalence clinique est restée très basse lors de toutes les visites (moins de 1,3 % de ruchers confirmés).

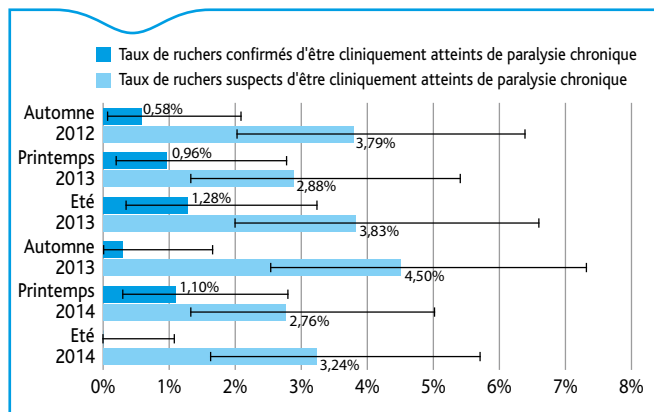


Figure 11. Évolution de la prévalence clinique de la paralysie chronique (et intervalles de confiance à 95 %) dans les ruchers visités au cours des campagnes 2012/2013 et 2013/2014

Discussion

Les deux campagnes de surveillance programmée du dispositif Résabeilles ont permis de collecter des données originales d'un point de vue qualitatif et quantitatif, assurant ainsi une bonne vision de la situation du cheptel apicole avec un niveau de précision satisfaisant. Il est intéressant de constater que la mortalité des colonies estimée au cours des deux campagnes est stable.

La mortalité hivernale est à un niveau (autour de 14 %), un peu supérieur au taux communément considéré comme acceptable d'un point de vue biologique (10 %) (Chauzat *et al.*, 2014). Si l'on compare cette mortalité hivernale avec celle obtenue dans les seize autres pays européens du programme Epilabee (Laurent *et al.*, 2015), la France se situe, pour la première campagne, dans une tranche moyenne entre des pays à très faible mortalité (Italie et Grèce par exemple avec respectivement 5,5 % et 6,6 %) et des pays où la mortalité est très importante (Belgique ou Angleterre avec des mortalités autour de 30 %). Pour la seconde campagne, la France se situe dans le groupe de pays qui connaissent la plus forte mortalité avec la Belgique, le Danemark, la Suède et la Finlande qui ont une mortalité hivernale entre 12 % et 16 %, la plupart des autres pays ayant une mortalité hivernale entre 2 % et 7 %.

La mortalité en saison apicole est forte (autour de 11 %), en comparaison avec celle obtenue dans les autres pays européens qui se situent tous en dessous de cette valeur et en majorité entre 0 % et 6 % au cours des deux campagnes. Ce taux élevé qui caractérise la France ne trouve pas à ce stade d'explication satisfaisante. Le taux de pertes global des colonies par campagne se trouve donc être élevé (près d'un quart des colonies perdues à chaque campagne) ce qui a nécessairement un impact sur l'activité apicole nationale. Ce taux global se situe dans la tranche élevée des résultats à l'échelon européen.

Pour ce qui concerne le varroa, on note sans surprise sa présence quasi généralisée dans les ruchers investigués. La maîtrise du parasite apparaît difficile ou incomplètement réalisée avec près d'un quart à un tiers des ruchers qui présentent des signes cliniques liés à la varroose lors des visites d'automne. Une étude centrée sur les traitements anti-varroa appliqués sur les colonies est en cours. Les comptages de varroas sur les abeilles vivantes prélevées en automne 2012 et en automne 2013 seront mis au regard des traitements et des pratiques zootechniques rapportées dans les commémoratifs recueillis lors des visites.

La première année de Résabeilles avait permis de montrer la forte prévalence de portage de spores de *Nosema* (87 % des ruchers). Les analyses réalisées montrent que l'espèce *N. ceranae* est fortement prédominante en France (96 %), ce qui corrobore les résultats des études menées dans certains pays du sud de l'Europe, comme en Espagne (Higes *et al.*, 2013; Martín-Hernández *et al.*, 2012) alors que dans des pays du nord de l'Europe c'est *N. apis* qui est dominant comme en Suède (Forsgren *et al.*, 2013). Malgré ce taux de portage important, une faible occurrence de suspicions cliniques de la maladie est observée

(autour de 1 %), liée sans doute à la faible spécificité des troubles associés à *N. ceranae* (dépopulation, mortalités, affaiblissements...) (Higes *et al.*, 2013) qui ne conduit pas les agents sanitaires apicoles à suspecter sa présence lors des visites.

Pour ce qui concerne les loques, les niveaux de prévalences cliniques relevés (jusqu'à 12 % pour la loque américaine et jusqu'à 8 % pour la loque européenne selon les visites) mettent en évidence la très forte sous-déclaration constatée dans le cadre de la surveillance événementielle à l'échelon national (Bendali *et al.*, 2014b). La diminution de la prévalence au cours des visites successives de Résabeilles signe l'effort d'assainissement de la maladie réalisé par les apiculteurs impliqués dans le programme et illustre clairement le phénomène « d'influence de l'observateur sur l'observé » qui conduit certains indicateurs mesurés à ne plus être représentatifs de la population totale après plusieurs cycles de visites. C'est la raison pour laquelle il était apparu souhaitable de renouveler l'échantillon d'apiculteurs participant au programme.

Au cours de l'automne 2013, le développement du volet écotoxicologie de Résabeilles a permis le prélèvement de nombreux échantillons de miel et de pain d'abeille dans les colonies surveillées. Les objectifs de ce projet étaient de: i) vérifier la faisabilité d'un programme élargi de collecte de prélèvements à des fins d'analyse toxicologique, ii) décrire les pesticides auxquels sont exposées les abeilles au sein des ruches, iii) conduire une analyse pour explorer les risques que représentent les pesticides sur la survie des colonies d'abeilles en hiver. Les recherches de résidus de pesticides dans les échantillons (plus de 70 molécules) sont achevées depuis peu. L'analyse de ces résultats est en cours et fera l'objet d'une diffusion à compter de septembre 2015. Ce protocole spécifique a d'ores et déjà permis de démontrer la faisabilité de la collecte de matrices à des fins d'analyse toxicologique, tout en permettant d'identifier des points d'amélioration en matière de prélèvement, de conditionnement et de stockage des échantillons (notamment pour obtenir des quantités suffisantes en vue des analyses) ainsi que des limites liées à la faisabilité et au coût de la recherche d'un grand nombre de pesticides.

D'un point de vue organisationnel, malgré les difficultés et la lourdeur du protocole, on note un bon niveau de réalisation avec, pour la deuxième campagne, 307 ruchers dans lesquels les trois visites ont pu être effectuées. Ceci a nécessité beaucoup d'efforts à tous les échelons du programme. De nombreux échanges ont été nécessaires entre la coordination du programme à l'échelon national et les acteurs en charge de la saisie des données dans les départements, pour aboutir à un jeu de données présentant une qualité répondant aux attentes. Afin de préciser l'origine des problèmes rencontrés au niveau des départements, une étude a été conduite sur la qualité des données qui a permis d'identifier des axes d'amélioration en termes de nature des données à collecter, d'outil de saisie et d'organisation générale du programme, notamment dans le domaine de la formation (Quérel *et al.*, 2015).

Conclusion

La mise en place de Résabeilles a démontré la faisabilité d'une surveillance programmée de la mortalité des colonies d'abeilles et les résultats collectés représentent aujourd'hui un jeu de données unique, qui est encore en cours d'exploitation pour identifier des pistes sur les liens éventuels entre la mortalité et un certain nombre de facteurs qui ont pu être quantifiés au cours des deux campagnes de surveillance. La quantité de données collectées apporte un niveau de puissance statistique qui n'avait que rarement pu être atteint auparavant dans le domaine de l'apiculture. Ce volet d'épidémiologie analytique permis par Résabeilles dépasse cependant le cadre strict de la surveillance.

Une limite importante du programme européen était l'absence de recherche de pesticides parmi les facteurs de risque de la mortalité. C'est ce qu'a tenté de corriger le programme Résabeilles au cours de la deuxième campagne, mais en confirmant un certain nombre de limites techniques dont il faudra tenir compte à l'avenir. À ce titre, la

Commission européenne, qui avait décidé d'arrêter le co-financement du programme Epilobee après deux campagnes, étudie la possibilité de reprendre ce co-financement avec l'intégration d'un volet sur les pesticides. La reprise d'un tel programme en France nécessiterait un réaménagement en profondeur pour en assurer la faisabilité et la durabilité.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement l'ensemble des acteurs dans les départements, apiculteurs, agents sanitaires, DDecPP et groupements de défense sanitaire apicoles, sans qui les résultats présentés n'auraient jamais pu être obtenus.

Bibliographie

Bendali, F., Franco, S., Jacques, A., Chauzat, M.-P., Hendrikx, P., 2014a. Surveillance de la mortalité et des maladies des abeilles en France : résultats de la première année du programme européen dans six départements pilotes. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 62, 2-7.

Bendali, F., Meziani, F., Franco, S., Hendrikx, P., 2014b. Bilan de la surveillance des maladies et troubles des abeilles sur l'année 2013. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 64, 72-77.

Chauzat, M.-P., Laurent, M., Rivière, M.-P., Saugeon, C., Hendrikx, P., Ribière-Chabert, M., 2014. A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013. European Union Reference Laboratory for Honeybee Health, Brussels, Rapport technique, 30 p. EFSA, 2009. Bee mortality and Bee surveillance in Europe. EFSA, Parma, Rapport technique, 217 p.

Forsgren, E., Fries, I., 2013. Temporal study of *Nosema* spp. in a cold climate. Environ. Micr. Rep. 5(1), 78-82

Higes, M., Meana, A., Bartolomé, C., Botías, C., Martín-Hernández, R., 2013. *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen. Environ. Micr. Rep. 5(1), 17-29.

Laurent, M., Hendrikx, P., Ribière-Chabert, M., Chauzat, M.-P., 2015. A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014. European Union Reference Laboratory for honeybee health. Brussels, Rapport technique, 44 p. http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/docs/bee-report_2012_2014_en.pdf

Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido Bailón, E., Martínez-Salvador, A., Prieto, L., Meana, A., Higes, M., 2012. Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*? Environ. Micr. Rep. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02645.x.

Quéré, P., Bronner, A., Meziani, F., Hendrikx, P., 2015. Importance de l'évaluation quantitative de la qualité des données d'un dispositif de surveillance : exemple du programme Résabeille. Épidémiol. et santé anim., 2015, 67, 39-50.

Cas de leptospirose canine en Guadeloupe entre 2012 et 2015 : résultats d'une étude pilote

Marion Petit-Sinturel (1) (marion.petit-sinturel@ars.sante.fr), Sylvie Cassadou (2), Martina Escher (3), Guillaume Gerbier (4), Stéphanie Guyomard (5), Brigitte Marie (4), Manuelle Miller (6), Pascal Bourhy (7), Christophe Dalibard (8), Jennifer Pradel (9), Xavier Roy (10), Martine Ledrans (3)

(1) Cellule de l'Institut de veille sanitaire en région Antilles Guyane, Cayenne, Guyane française, France

(2) Cellule de l'Institut de veille sanitaire en région Antilles Guyane, Gourbeyre, Guadeloupe, France

(3) Cellule de l'Institut de veille sanitaire en région Antilles Guyane, Fort de France, Martinique, France

(4) Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Guadeloupe, Pointe à Pitre, Guadeloupe, France

(5) Institut Pasteur de Guadeloupe, Pointe à Pitre, Guadeloupe, France

(6) Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Cayenne, Guyane française, France

(7) Institut Pasteur de Paris, Centre national de référence de la leptospirose, Paris, France

(8) Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Martinique, Fort de France, Martinique, France

(9) Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Prise d'eau, Guadeloupe, France

(10) Association des vétérinaires praticiens libéraux de Guadeloupe, Pointe à Pitre, Guadeloupe, France

Résumé

Les quelques données disponibles sur la leptospirose humaine et animale dans les Antilles montrent que l'impact de cette maladie y est bien plus important qu'en France métropolitaine. En 2012, le groupe de travail « Leptospirose animale » créé en 2010 a mis en place une étude pilote chez le Chien ayant pour objectif d'étudier la pertinence de l'intégration d'une surveillance animale à visée d'alerte dans un programme de surveillance de la leptospirose humaine. Des cabinets vétérinaires de Guadeloupe devaient prélever des chiens reçus en consultation et dont les signes cliniques étaient évocateurs de leptospirose. Une fiche de renseignements standardisée accompagnant le prélèvement était complétée puis transmise à l'Institut Pasteur de Guadeloupe pour analyse biologique. Les résultats d'analyse étaient reportés sur la fiche qui était ensuite transmise à la cellule de l'Institut de veille sanitaire en régions Antilles-Guyane (Cire-AG) pour être saisie et analysée. L'étude, débutée en 2012 et terminée en 2015, a permis de prélever 53 chiens dont dix biologiquement confirmés, 39 négatifs et, pour quatre d'entre eux, les résultats biologiques n'ont pas pu être interprétés. Au total, le taux de positivité des tests était de 20,4 %. Les caractéristiques individuelles, temporelles et spatiales ainsi que les sérovars circulants ont été identifiés et comparés à ceux de la leptospirose humaine. Des similitudes ont pu être mises en évidence.

Mots-clés

Leptospirose animale, leptospirose canine, petites Antilles, Guadeloupe

Abstract

Leptospirosis cases in dog in Guadeloupe between 2012 and 2015: results of pilot study

The available information on human and animal leptospirosis in the Lesser Antilles shows that the disease has a higher impact in this region than it does in metropolitan France. In 2010, the "Animal Leptospirosis" working group was created and a pilot study in dogs was implemented. Private veterinarians in Guadeloupe were asked to collect samples on dogs with clinical signs of leptospirosis. For each case, a standardized questionnaire was completed and transmitted to the Pasteur Institute of Guadeloupe for biological analysis. Results from the questionnaire were collated and all the information was forwarded to the Cire-AG to be analyzed. The study, which began in 2012 and ended in 2015, gathered 53 samples including 10 confirmed cases, 39 negative cases and 4 cases with non-interpretable biological results. The positive test rate was 20.4%. Individual, temporal and spatial characteristics as well as the circulating serotypes were identified and compared with human leptospirosis. Similarities were identified.

Keywords

Animal leptospirosis, Canine leptospirosis, Lesser Antilles, Guadeloupe

En France, la leptospirose humaine (voir Encadré) n'est pas une maladie à déclaration obligatoire. Ainsi, avant 2011, peu de données étaient disponibles en dehors de celles diffusées chaque année par le centre national de référence de la leptospirose (CNRL) situé à l'Institut Pasteur de Paris.

En 2011, une étude d'incidence (Cassadou *et al.*, 2013) menée en milieu hospitalier et en médecine de ville en Guadeloupe et en Martinique a mis en évidence que l'impact de cette maladie sur ces deux territoires était bien plus important que celui observé en France métropolitaine. En effet, entre 2002 et 2008, en France métropolitaine, l'incidence moyenne annuelle était de 0,5 cas pour 100 000 habitants [$IC_{95\%}$: 0,3 – 0,6] alors que l'étude d'incidence estimait qu'en 2011, elle était de 69 cas pour 100 000 habitants en Guadeloupe [$IC_{95\%}$: 48 – 91] et de 61 cas pour 100 000 habitants en Martinique [$IC_{95\%}$: 36 – 85] (Cassadou *et al.*, 2013).

Chez les animaux, dans les Antilles, les connaissances sur la circulation de la leptospirose reposent sur des études ponctuelles de séroprévalence ou de prévalence du portage rénal, conduites généralement sur de petits échantillons non représentatifs de la population totale. De plus, ces données ne sont pas disponibles pour l'ensemble des espèces concernées. Les rares informations publiées montrent cependant que

la leptospirose est enzootique dans les Antilles et que de nombreuses espèces, incluant les animaux domestiques, sont porteuses de leptospires (Heymann, 2004; Acha *et al.*, 2001). En revanche, le lien entre les hôtes de maintien, les hôtes accidentels et les sérovars circulants n'est encore que partiellement connu.

Présentation de l'étude

Compte tenu de ce contexte, et dans la perspective d'un futur Programme de surveillance, d'alerte et de gestion des cas de leptospirose en Guadeloupe et en Martinique, un groupe de travail multidisciplinaire « Leptospirose animale » a été créé en 2010. Celui-ci regroupait la cellule de l'Institut de veille sanitaire en régions Antilles-Guyane (Cire-AG), les directions de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt (DAAF) de Guadeloupe, Martinique et Guyane, l'Institut Pasteur de Guadeloupe, le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad) et l'Association des vétérinaires praticiens libéraux de Guadeloupe (AVPLG). Ce groupe de travail avait pour objectif d'étudier la pertinence de l'intégration d'une surveillance animale à visée d'alerte dans un programme de surveillance de la leptospirose humaine et, le cas échéant, en identifier

Encadré. La leptospirose humaine

La leptospirose est une zoonose de répartition mondiale qui affecte de nombreuses espèces animales, dont les amphibiens, oiseaux, reptiles et plus de 160 espèces de mammifères incluant les animaux domestiques et l'être humain (Acha *et al*, 2001 ; Heymann, 2004). Dans le cycle de la maladie, impliquant animaux domestiques et animaux sauvages, l'hôte de maintien principal est le rat, alors que l'Homme y est un hôte accidentel (Levett, 2001).

L'agent pathogène de la leptospirose est une bactérie de l'ordre des Spirochaetales, espèce *Leptospira interrogans* subdivisée en plus de 220 sérovars regroupés en plus de 25 sérogroupes (Michel, 2001). Ces bactéries, bien que ne se multipliant pas dans l'environnement, y sont très résistantes et peuvent y survivre pendant des mois (Levett, 2001).

L'Homme s'infecte par contact direct ou indirect à travers une plaie, même minime, mais également à travers une peau saine et intacte, notamment à l'occasion d'une immersion prolongée dans une eau contaminée. Ainsi, trois principaux types d'exposition décrits sont : i) une exposition professionnelle par contact avec des animaux infectés, ii) une exposition lors d'activités de loisirs, notamment aquatiques, en eau douce, et iii) une exposition pendant les activités quotidiennes (jardinage sans gant ou contact avec des animaux domestiques porteurs).

Le climat chaud des Antilles favorise non seulement une meilleure survie des leptospires dans l'environnement, mais aussi la pratique d'activité extérieure toute l'année avec, souvent, un manque de protection individuelle. Ainsi, une étude sur la leptospirose humaine menée en 2011, a montré que l'incidence de la maladie chez l'homme était beaucoup plus élevée dans les Antilles que dans les régions tempérées avec une occurrence liée à la saison des pluies (Cassadou *et al*, 2013).

précisément les objectifs, les protocoles et les indicateurs appropriés. En effet, l'identification de cas animaux groupés dans l'espace et dans le temps pourrait être un indicateur de la présence de leptospires dans l'environnement et donc permettre une sensibilisation précoce et ciblée auprès des résidents de ces zones.

Ainsi, après avoir évalué les espèces animales candidates à une surveillance épidémiologique pouvant être intégrée dans un programme de surveillance de la leptospirose humaine, le groupe de travail a décidé de mettre en place une étude pilote chez le Chien. En effet, celui-ci vit en contact étroit avec l'Homme et fréquente les mêmes lieux de vie ; il est très sensible à l'infection, présente des signes cliniques, qui sont, dans la forme aiguë, précoces et plus spécifiques que ceux présentés par l'Homme ou par les autres animaux domestiques, et son état de santé est souvent facile à suivre à travers des consultations vétérinaires.

L'étude pilote a été mise en place en Guadeloupe, avec pour objectifs : i) de déterminer le nombre, la localisation et la répartition temporelle des cas cliniquement évocateurs de leptospirose canine vus en clinique vétérinaire ainsi que le taux de positivité des tests et les sérovars concernés, ii) de mettre ces données en perspective avec les données disponibles chez l'Homme, iii) d'identifier d'éventuelles caractéristiques démographiques ou d'exposition spécifiques aux cas, iv) de préciser la notion de cas groupés chez le Chien qui pourrait, à terme, être un indicateur de risque pour l'Homme.

Plus précisément, pour que les indicateurs de surveillance canine jouent un rôle d'alerte au sein de la surveillance humaine, il faudrait : i) que le taux de positivité soit supérieur chez le Chien par rapport à celui observé chez l'Homme et/ou que le nombre de cas (cliniquement

évocateurs ou confirmés) soit suffisant pour détecter de façon sensible les variations de l'indicateur, celles-ci constituant l'alerte, ii) et être en mesure de détecter précocement des cas groupés canins.

Méthode

Parmi les 26 cabinets vétérinaires installés en Guadeloupe, douze ont participé volontairement à l'étude. Répartis sur l'ensemble du territoire de la Guadeloupe continentale⁽¹⁾, ils ont réalisé des prélèvements sur des chiens reçus en consultation qui répondaient à la définition d'un cas cliniquement évocateur de leptospirose : « *Tout chien reçu en consultation dans un des cabinets vétérinaires participant à l'étude et présentant des signes cliniques de gastroentérite aiguë ou hémorragique OU une oligurie OU une anurie OU un ictère, associé(s) à une température > 38°C ET un abattement* ».

Pour chaque prélèvement, le vétérinaire complétait une fiche de renseignements standardisée sur laquelle figuraient les informations sur le propriétaire, l'animal, la symptomatologie observée et l'exposition à d'éventuels facteurs de risque.

Selon le délai entre la date d'apparition des signes cliniques et la date de la consultation médicale, des prélèvements sanguins ou urinaires étaient réalisés puis analysés biologiquement par l'institut Pasteur de Guadeloupe (Tableau 1).

Un cas biologiquement confirmé correspondait à « *un cas cliniquement évocateur de leptospirose pour lequel au moins un résultat d'analyse biologique est positif* ». Les résultats d'analyse étaient reportés sur la fiche de renseignements. Celle-ci était transmise à la Cire-AG où les données étaient saisies et analysées. Pour chaque cas biologiquement confirmé par PCR en temps réel, des cultures étaient ensemencées (si un tube hépariné était disponible) et envoyées au centre national de référence Leptospire de l'Institut Pasteur de Paris pour identification génomique.

Résultats

Entre le 9 juillet 2012 et le 25 février 2015, 53 prélèvements sanguins ont été réalisés par les cabinets vétérinaires de Guadeloupe sur des cas cliniquement évocateurs de leptospirose (aucun prélèvement urinaire). Parmi eux, dix cas ont été biologiquement confirmés par PCR en temps réel sur prélèvement sanguin, 39 ont été identifiés comme biologiquement négatifs et, pour quatre d'entre eux, les résultats biologiques n'ont pas pu être interprétés. Ces derniers ont donc été supprimés de l'analyse. Au total, sur l'ensemble des chiens pour lesquels un résultat biologique était disponible (n=49), le taux global de positivité des tests était de 20,4 %.

Caractéristiques démographiques et rayon de déplacement

Les mâles ont été plus souvent confirmés que les femelles (Tableau 2). En revanche, l'âge des cas confirmés n'était pas différent des cas négatifs. Par ailleurs, les chiens de race croisée ne semblaient pas majoritaires dans un des deux groupes.

(1) La Guadeloupe est un archipel comprenant deux îles principales, Grande-Terre et Basse-Terre, qui constituent ce qui est appelé localement « Guadeloupe continentale », pour distinguer ces territoires des autres îles de l'archipel (Les Saintes, Marie-Galante, La Désirade).

Tableau 1. Nature des échantillons et analyses biologiques effectuées par l'Institut Pasteur de Guadeloupe sur les prélèvements des cas cliniquement évocateurs de leptospirose vus en cabinet vétérinaire

Période de prélèvement depuis la date de début des signes	Liquide biologique	Volume	Flacon	Conservation	Examen
J1 - J10	Sang	500 µl (minimum)	Tube EDTA	+ 4°C	PCR temps réel
À partir de J10	Urines	2 ml (minimum)	Flacon stérile	+ 4°C	
J1 - J10	Sang	1 ml	Tube hépariné	+ 4°C	Culture

Tableau 2. Caractéristiques démographiques des cas cliniquement évocateurs de leptospirose canine vus en cabinet vétérinaire - juillet 2012 à janvier 2015 - Guadeloupe continentale - n=49

	Cas cliniquement évocateurs biologiquement négatifs (n=39)	Cas cliniquement évocateurs biologiquement confirmés (n=10)
Sexe		
Mâles	21	8
Femelles	18	2
Ratio (M/F)	1,16	4
Age médian [min ; max]		
	5 mois [2 mois ; 8 ans]	4 mois [2 mois ; 5 ans]
Race		
Croisée	18 (46 %)	5 (50 %)
Autres races	21 (54 %)	5 (50 %)

Aucune différence n'a été mise en évidence entre les cas négatifs et les cas confirmés sur le niveau d'exposition aux rongeurs: parmi les 39 chiens négatifs, 30 (76,9 %) étaient en contact régulier avec des rats contre huit (80 %) au sein des cas confirmés. Parmi l'ensemble des cas cliniquement évocateurs, le statut vaccinal était inconnu pour la majorité (61 %) et, parmi les 14 % qui avaient été vaccinés, un cas confirmé l'avait été lors de son entrée sur le territoire deux mois avant la date de début des signes cliniques (le vaccin contre la leptospirose ne concernant que les sérovars *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola* (Folia veterinaria, 2008), ce chien avait pu contracter une leptospirose dû à un autre sérovar). Enfin, pour l'ensemble des cas cliniquement évocateurs, la majorité des chiens étaient attachés ou avaient un déplacement limité à la maison sans possibilité d'échappement à l'extérieur.

Parmi l'ensemble de ces caractéristiques générales, aucune n'a donc été discriminante (Khi² non significatifs), mais les effectifs étaient faibles.

Répartition spatiale

Les 49 cas cliniquement évocateurs de leptospirose étaient répartis de manière homogène sur le territoire: tous les cabinets vétérinaires impliqués dans l'étude sauf un avaient reçu au moins un chien répondant à la définition du cas (Figure 1).

Les chiens biologiquement confirmés de leptospirose ont été identifiés au sein de quatre cabinets vétérinaires situés dans les zones du Lamentin (Nord de Basse-Terre), de Goyave et de Capesterre Belle-Eau (Côte au vent) et de Morne à L'eau (Centre de la Grande-Terre). Enfin, aucun regroupement spatial de cas n'a été mis en évidence.

Répartition temporelle

Parmi les 48 chiens ayant présenté des signes cliniques de leptospirose et pour lesquels la date de début des signes (ou de consultation) était disponible, près des trois-quarts (71 %) les avaient présentés au cours du deuxième semestre des trois années dont neuf cas des dix confirmés (Figure 2).

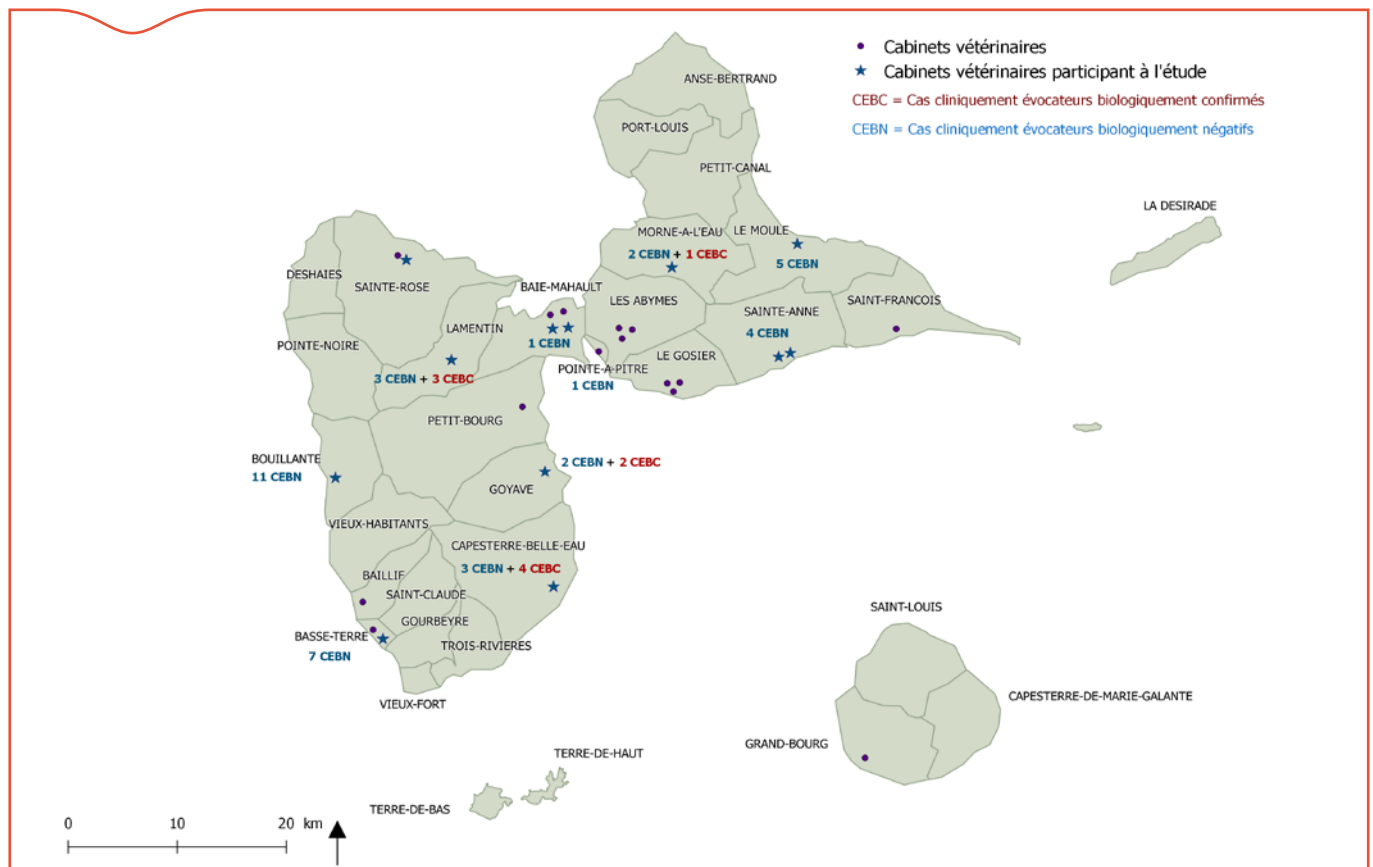
Espèces et sérovars identifiés

Pour deux des dix chiens confirmés, des espèces et sérovars ont pu être identifiés: l'un correspond à *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* et l'autre à *Leptospira noguchii*.

Discussion

Malgré la faiblesse des effectifs et donc la difficulté de mener une analyse statistique solide sur les variables recueillies, les résultats de l'étude permettent d'émettre des hypothèses sur certaines similitudes entre les caractéristiques épidémiologiques de la leptospirose entre le Chien et l'Homme en Guadeloupe.

Tout d'abord, la répartition par sexe montre une prédominance des chiens mâles parmi les cas confirmés. Ce même déséquilibre est connu dans la maladie humaine et une hypothèse explicative est intuitivement



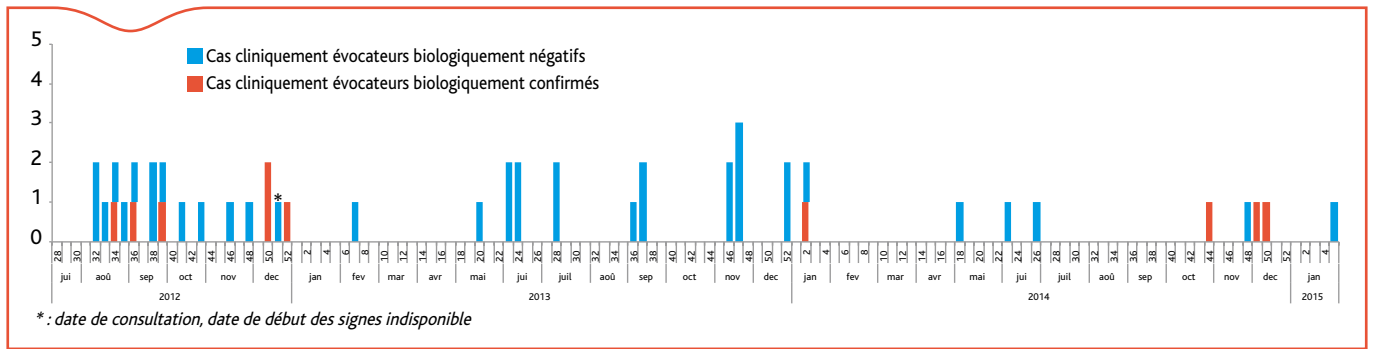


Figure 2. Date de début des signes cliniques de l'ensemble des cas évocateurs de leptospirose canine vus en cabinet vétérinaire - juillet 2012 à janvier 2015 - Guadeloupe continentale (N=48 ; 1 donnée manquante)

celle d'une surexposition des hommes liée aux activités spécifiques masculines (Cassadou *et al*, 2013). Chez le Chien, l'hypothèse d'une éventuelle surexposition des chiens mâles plus fréquemment emmenés en zone à risque (pour aller à la chasse par exemple), pourrait être envisagée, cependant celle-ci reste à confirmer. Par ailleurs, de manière plus générale, la proportion de chiens mâles dans la population canine totale de Guadeloupe étant inconnue, il convient de rester prudent sur les hypothèses avancées.

La répartition géographique des cas confirmés de leptospirose canine semble cohérente avec celle de la leptospirose humaine : en effet, les dix cas confirmés ont été identifiés dans le Nord de la Basse-Terre, la Côte au vent et la Grande-Terre (hors région de Pointe à Pitre) tout comme une majorité des prélèvements positifs humains analysés lors de l'étude d'incidence de 2011 (Cassadou *et al*, 2013). Dans ce contexte, l'absence de confirmation de cas canin à Sainte-Anne, au Moule, à Bouillante et sur Basse-Terre peu poser question, notamment sur les conditions de transport des prélèvements qui auraient pu être moins optimales vue la plus grande distance entre ces communes et l'institut Pasteur de Guadeloupe, situé aux Abymes.

La répartition temporelle des inclusions permet d'observer que la majorité des cas cliniquement évocateurs (n=37) ont été observés au cours des deuxièmes semestres de 2012 à 2014 (particulièrement en 2012, possiblement dû à un meilleur accompagnement des vétérinaires sur cette période). Le taux de positivité des tests suit la même tendance au cours du temps. Les valeurs de cumuls pluviométriques annuels de 2012 à 2014 en Guadeloupe continentale ont été très proches de leurs normales respectives (1981-2010) classant ainsi ces années comme normales (Météo France). Ainsi, l'hypothèse d'une saisonnalité de la pathologie chez le Chien, comparable à celle de la leptospirose humaine, semble valide. En effet, une recrudescence du nombre de cas humains avait été observée au cours du deuxième semestre de 2011 (Cassadou *et al*, 2013), période de l'année correspondant à la période humide aux Antilles, particulièrement pluvieuse cette année-là (Météo France).

Deux sérovars, *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* et *Leptospira noguchii*, ont respectivement été identifiés chez deux chiens. Ce nombre d'identifications est très faible et ne permet pas de connaître avec précision les souches circulant chez le Chien. Néanmoins celles-ci auraient tout aussi bien pu être identifiées chez l'Homme et ne montrent pas de particularité canine. En effet, 24 cas humains de *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* ont été identifiés entre 2007 et 2012 et un cas humain de *Leptospira noguchii* avait été décrit en 2011 en Guadeloupe (Bourhy *et al*, 2013).

Enfin, les résultats montrent que le taux global de positivité est de 20,4 % chez le Chien, très proche du taux de positivité de 21 % observé chez l'Homme en Guadeloupe (Cassadou *et al*, 2013). Le tableau clinique de la leptospirose aiguë chez le Chien étant plus spécifique que chez l'Homme, un taux plus élevé était attendu. Des hypothèses sont envisagées afin d'expliquer ce phénomène : une définition d'un cas cliniquement évocateur de leptospirose pas assez spécifique (température > 38°) car incluant d'autres maladies présentant des tableaux cliniques comparables, ou la technique PCR utilisée pas assez

sensible, ou enfin le conditionnement et le transport des prélèvements inappropriés dans certains cas.

Conclusion

Les résultats de cette étude semblent donc montrer des similitudes entre l'épidémiologie de la leptospirose canine et celle de la leptospirose humaine tant en termes de sex-ratio, que de répartition géographique et temporelle. En revanche, contrairement à ce qui était attendu, le taux de positivité des tests et le nombre de cas enregistrés ne montrent pas une grande sensibilité de l'indicateur « nombre de cas de leptospirose canine ». Or, seul un nombre suffisant de cas canins permettrait de faire jouer à la surveillance canine, un rôle d'alerte sur le risque de recrudescence chez l'Homme. De plus, ces résultats n'ont pas identifié de regroupement temporo-spatial de cas pouvant éventuellement indiquer une zone particulièrement à risque.

Aussi, au terme de cette étude, les résultats ne sont pas assez concluants pour intégrer les indicateurs de la surveillance de la leptospirose animale dans la surveillance de la leptospirose humaine. Cependant, compte-tenu des limites de ce tout premier travail exploratoire, des études épidémiologiques vétérinaires complémentaires seraient utiles pour consolider ces résultats.

Remerciements

Les vétérinaires de Guadeloupe participant à l'étude (Dr Manuel, Dr K. Arnaud, Dr S. Arnaud, Dr Lillaz, Dr Evva, Dr Savoye, Dr Redon, Dr Houdas, Dr Baudin, Dr Hodebar, Dr Minatchy, Dr Roy, Dr Rosenholz, Dr Ibene, Dr Vecoven, Dr Malakian et Dr Mercadier) sont remerciés pour leur contribution à cette étude.

Références bibliographiques

Acha P.N., Szyfres B. 2001. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, volume 1: Bacterioses and Mycoses. 3^e édition, Washington (DC), Pan American Health Organization. 378 pp.

Bourhy P., Herrmann Storck C., Theodose R., Olive C., Nicolas M., Hochedez P., Lamaury I., Zinini F., Bremont S., Landier A., Cassadou S., Rosine J., Picardeau M. 2013. Serovar Diversity of Pathogenic *Leptospira* Circulating in the French West Indies. PLOS Negl. Trop. Dis. 7, 3, e2114, 1-10.

Cassadou S., Rosine J., Flamand C., Ledrans M., Bourhy P., Quenel P. 2013. Incidence de la leptospirose aux Antilles: Étude du 1er janvier au 31 décembre 2011. Bulletin de Veille Sanitaire, 5, 12-15.

Folia vétérinaire. 2008. Efficacité de la vaccination contre la leptospirose du chien, ses limites médicales et épidémiologiques. CBFI CBIP 2008. Disponible sur: <http://www.cbip-vet.be/fr/frinfos/frfolia/08FV2c.pdf>

Heymann D.L. 2004. Control of Communicable Diseases Manual. 18th Edition. Leptospirosis. 306-309.

Levett P. 2001. *Leptospirosis*. Clin. Microbiol. Rev. 14: 296-326

Météo France. Bulletins climatiques annuels. 2011, 2012, 2013, 2014. Disponibles sur <http://www.meteo.gp/>

Michel V. 2001. Epidémiologie de la leptospirose zoonose (Étude comparée du rôle de différentes espèces de la faune sauvage et de leur environnement). Thèse d'université. Université Claude Bernard Lyon 1. 251pp

Brève. Persistance de la peste porcine africaine en Europe de l'Est

Short item. Persistence of African swine fever in Eastern Europe

Marie-Frédérique Le Potier (1), Elena Arsevska (2), Clara Marcé (3)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Laboratoire national de référence pour la peste porcine africaine, Ploufragan, France

(2) Cirad, UMR CMAEE, Montpellier, France

(3) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Mots-clés: Peste porcine africaine, Europe/**Keywords:** African swine fever, Europe

Suite à l'introduction en 2007 en Géorgie d'une souche de virus de la peste porcine africaine (PPA) dont l'origine d'Afrique de l'Est ou de Madagascar a été confirmée par séquençage moléculaire (Rowlands *et al* 2011), la maladie s'est très vite étendue aux pays voisins. Dès 2008, elle a été détectée au sein de la Fédération de Russie où elle s'est endémisée dans la région du Caucase. L'infection a par ailleurs poursuivi sa progression vers le Nord-Ouest sur de plus grandes distances *via* des mouvements d'animaux, des contacts directs entre porcs de basse-cour et sangliers (Oganesyanyan *et al*, 2013) mais aussi par la distribution d'eaux grasses (Gulenkin *et al.*, 2011; EFSA, 2014). En juillet 2012, un premier cas était déclaré en Ukraine, puis en juin 2013 en Biélorussie. En janvier 2014, l'introduction du virus dans l'Union européenne (UE) a été confirmée par sa détection chez des sangliers en Lituanie, puis en février en Pologne. Elle a été depuis confirmée majoritairement chez des sangliers (Figure 1) dans les pays baltes (Estonie, Lettonie, Lituanie) et dans l'Est de la Pologne.

La mise en place d'une surveillance programmée et événementielle en élevage comme chez les sangliers a permis de suivre la diffusion spatio-temporelle de la maladie et, en l'absence de vaccin, la mise en œuvre de mesures de biosécurité au sein des États membres de l'UE affectés a permis d'éviter la diffusion de la PPA au sein des élevages de porcs domestiques.

Deux zones de surveillance en Lettonie et en Estonie ont dû être revues à la hausse en raison de la découverte de carcasses de sangliers retrouvés morts, infectés par la PPA, en dehors des zones précédemment définies (Décision UE No. 2014/709/UE).

De janvier à mai 2015, 135 cas ont déjà été rapportés à l'OIE, alors que pour tout le 1^{er} semestre 2014, seulement douze cas avaient été rapportés pour un total de 256 cas sur toute l'année 2014 (Figure 2).

Ce nombre toujours croissant de cas détectés chez des sangliers témoigne de l'efficacité de la surveillance appliquée dans ces pays. Il est à noter que la détection par la surveillance événementielle reste la plus efficace. La majorité des cas détectés le sont à partir de sangliers retrouvés morts, alors que la surveillance programmée fournit moins de 1 % de résultats positifs à partir des échantillons collectés à la chasse. À titre d'exemple en Lettonie, 140 sangliers trouvés morts étaient positifs sur les 202 testés, alors que seulement dix sangliers étaient positifs sur les 1890 prélevés à la chasse (communication lors de la réunion des laboratoires nationaux de

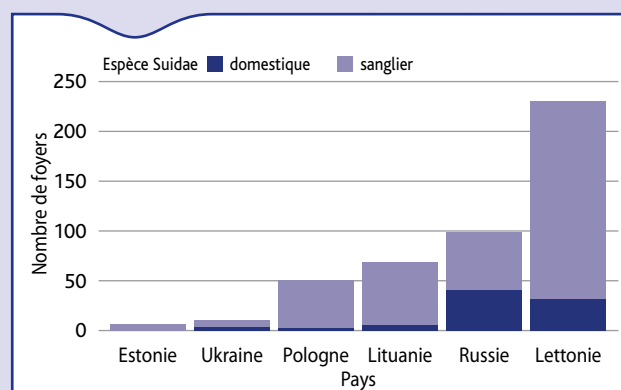


Figure 1. Nombre de foyers de peste porcine africaine en Europe entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 mars 2015 (FAO EMPRES-i/OIE WAHID)

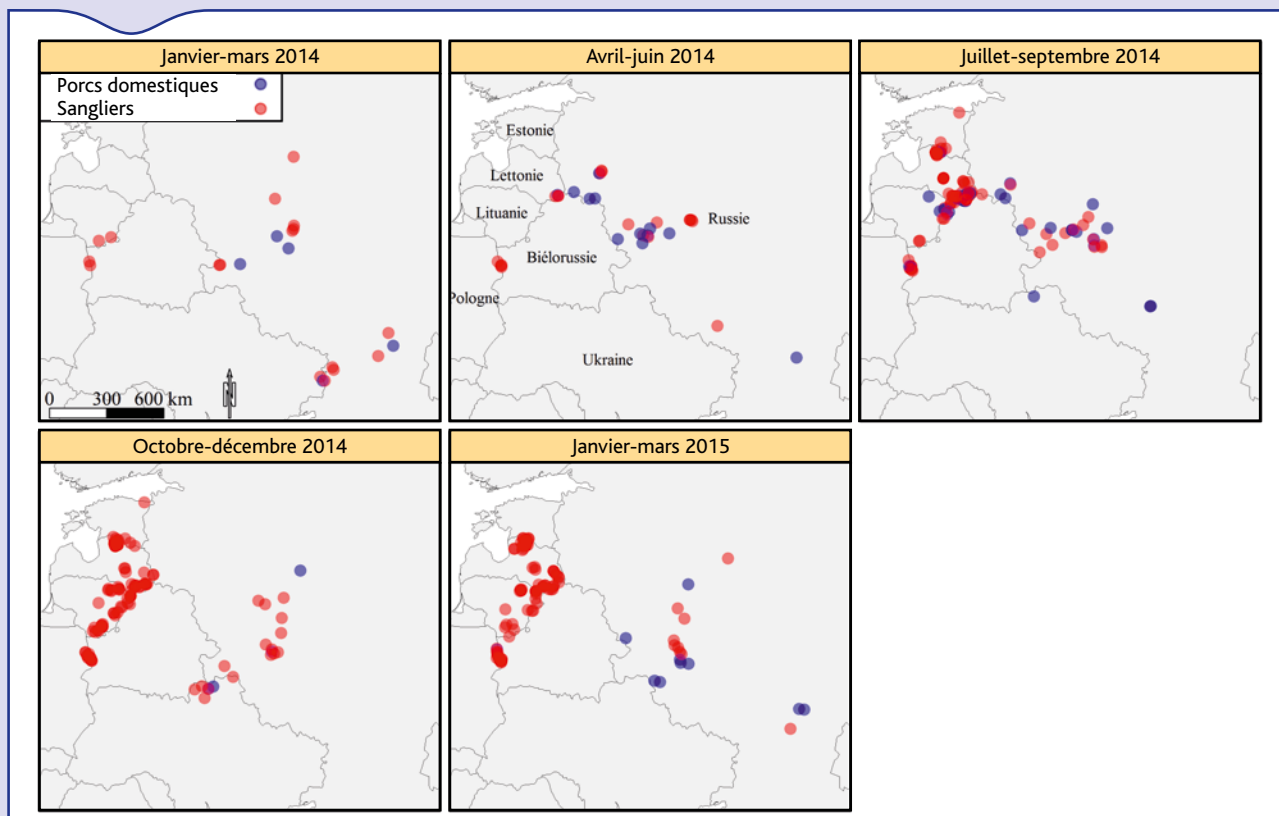


Figure 2. Répartition des foyers de peste porcine africaine chez les sangliers (en rouge) et les porcs domestiques (en bleu) entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 mars 2015 (source FAO EMPRES-i/OIE WAHID)

référence (LNRs) PPA à Madrid le 10/06/15). La diffusion de l'infection au sein des populations de sangliers peut en partie s'expliquer par le comportement nécrophagique du sanglier qui l'amène à se contaminer en consommant des carcasses infectées, participant ainsi à la diffusion géographique de la maladie.

En juin 2015 (date de la rédaction de l'article) la situation semblait stabilisée à l'Est de l'UE. Il n'y a pas eu de diffusion importante de l'infection dans la filière porcine et il n'a plus été détecté de foyers de PPA dans des élevages de porcs depuis octobre 2014. Pour autant la maladie continue à sévir dans la population de sangliers, mais sans s'étendre de manière marquante sur le plan géographique depuis presque un an. Ainsi en Lettonie, les experts rapportent que la répartition géographique des densités des sangliers a changé en 2015 par rapport à 2014 (diminué dans certaines régions et augmenté dans d'autres), mais ne savent pas encore si c'est en raison de la maladie ou de pratiques de chasse modifiées.

Références bibliographiques

Costard, S., B. A. Jones, B. Martinez-Lopez, L. Mur, A. de la Torre, M. Martinez, F. Sanchez-Vizcaino, J. M. Sanchez-Vizcaino, D. U. Pfeiffer, and B. Wieland. 2013. Introduction of African Swine Fever into the European Union through Illegal Importation of Pork and Pork Products. *PLoS One* 8 (4):e61104.

Décision d'exécution de la Commission du 9 octobre 2014 concernant des mesures zoosanitaires de lutte contre la peste porcine africaine dans certains États membres et abrogeant la décision d'exécution 2014/178/UE (avec les dernières modifications). Consultée le 16 mai 2015 sur <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014D0709&from=EN>.

EFSA Journal 2014; 12(4):3628 [77 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2014.3628.

FAO. EMPRES-i. Base de données. Consulté le 10 avril 2015 sur <http://empres-i.fao.org/eipws3g/>.

Gulenkin, V. M., F. I. Korennoy, A. K. Karaulov, and S. A. Dudnikov. 2011. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Prev Vet Med* 102 (2011) 167–174.

OIE. WAHID. Base de données. Consulté le 20 avril 2015 sur http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Immsummar.

Oganessian, A. S., O. N. Petrova, F. I. Korennoy, N. S. Bardina, A. E. Gogin, and S. A. Dudnikov. 2013. African swine fever in the Russian Federation: Spatio-temporal analysis and epidemiological overview. *Virus Res* 173 ((1)):204-211.

Rowlands, R. J., V. Michaud, L. Heath, G. Hutchings, C. Oura, W. Vosloo, R. Dwarka, T. Onashvili, E. Albina, and L. K. Dixon. 2008. African swine fever virus isolate, Georgia, 2007. *Emerg Infect Dis* 14 (12):1870-1874.

Brève. Modalités de détention de chauve-souris exotiques en France

Short item. Regulations for keeping exotic bats in France

Mise au point en complément de l'article du BE 66 relatif aux « Risques d'introduction de maladies exotiques liés à l'importation de chauves-souris et de leurs produits ».

Thierry De Ruyter (thierry.de-ruyter@aisne.gouv.fr)

Directeur départemental de la protection des populations de l'Aisne, Laon, France

Mots-clés: Chauve-souris exotiques, France, réglementation/Keywords: Exotic bats, France, Regulation

L'article du *Bulletin épidémiologique* n°66 intitulé « Risques d'introduction de maladies exotiques liés à l'importation de chauves-souris et de leurs produits » reprend les aspects réglementaires liés à l'introduction de chauve-souris exotiques en Europe et sur le territoire métropolitain. Certaines imprécisions ont pu être constatées en matière de conditions de détention. Il est donc apparu utile de reprendre le cadre réglementaire général qui définit comment les chauves-souris, exotiques ou non, peuvent être détenues en France.

La détention des espèces non domestiques est régie par les arrêtés ministériels du 10 août 2004 (Cf. Encadré). L'arrêté relatif aux élevages d'agrément définit dans son article 1 ce qui ne peut pas être considéré comme élevage d'agrément et qui doit donc être considéré comme « établissement ». Globalement, trois critères conduisent un élevage à être « établissement » :

- si l'élevage détient des espèces mentionnées à l'annexe 2 sans être reprises à l'annexe 1,
- s'il met en œuvre une activité lucrative (parcs zoologiques, animaleries, cirques, élevages professionnels...),
- lorsque les seuils quantitatifs fixés à l'annexe A sont dépassés.

L'ordre des chiroptères est repris intégralement et explicitement au point 4 de l'annexe 2.

De cela et du libellé même du titre de cette annexe 2, découle que ces espèces :

- ne peuvent être détenues que dans des établissements et pas en élevage d'agrément (au sens réglementaire),
- que, parmi les établissements, seuls les élevages professionnels ou de présentation au public sont autorisés à détenir ces espèces (les animaleries sont exclues).

Dès le premier chiroptère détenu, le responsable d'établissement doit être titulaire du certificat de capacité et l'établissement doit disposer d'une autorisation préfectorale d'ouverture.

Un particulier, amateur éclairé, s'il remplit ces conditions, peut donc détenir un chiroptère. Son élevage devient de ce fait « établissement ».

Cette possibilité semble néanmoins être peu utilisée à ce jour, ce qui limite les risques sanitaires liés à une détention de chiroptères.

Références réglementaires

Arrêté du 10 août 2004 fixant les conditions d'autorisation de détention d'animaux de certaines espèces non domestiques dans les établissements d'élevage, de vente, de location, de transit ou de présentation au public d'animaux d'espèces non domestiques.

Arrêté du 10 août 2004 fixant les règles générales de fonctionnement des installations d'élevage d'agrément d'animaux d'espèces non domestiques.

Encadré. Définitions au sens des arrêtés ministériels du 10 août 2004

Établissement d'espèces non domestiques: tout élevage⁽¹⁾ d'animaux d'espèces non domestiques présentant l'une au moins des caractéristiques suivantes :

- l'élevage porte sur des animaux d'espèces ou groupes d'espèces inscrits à l'annexe 2 des arrêtés susvisés,
- l'élevage est pratiqué dans un but lucratif. Exemples: parcs zoologiques et cirques, animaleries de détail ou importateurs, élevages professionnels,
- le nombre d'animaux hébergés excède les effectifs maximum fixés en annexe A de l'arrêté susvisé relatif aux élevages d'agrément.

Élevage d'agrément: tout élevage ne présentant pas les caractéristiques mentionnées ci-dessus définissant un établissement, constitue un élevage d'agrément.

(1) Réglementairement, le terme "élevage" n'implique pas nécessairement qu'il y ait reproduction. La détention d'un seul spécimen est considérée comme un élevage.

Collaborations sino-européennes en santé animale : le projet LinkTADs et autres activités menées par le Cirad

Julien Cappelle (1,2,3) (julien.cappelle@cirad.fr), Flavie Luce Goutard (1,2,4), Marisa Peyre (1,2,5), François Roger (1,2,4)

(1) Cirad, Unité de recherche AGIRs, Montpellier, France

(2) Plateforme régionale GREASE, Bangkok, Thaïlande

(3) Institut Pasteur du Cambodge, Phnom-Penh, Cambodge

(4) Université de Kasetsart, Bangkok, Thaïlande

(5) National Institute of Veterinary Research, Hanoi, Vietnam

Résumé

La Chine est aujourd'hui le premier producteur mondial de produits animaux et la surveillance des maladies animales et zoonotiques y est donc un enjeu mondial. Afin de renforcer les collaborations avec la Chine dans ce domaine, une action de coordination a été lancée par l'Union européenne, le projet LinkTADs. Ce projet, coordonné par la FAO, a d'ores et déjà permis d'identifier les principaux besoins de recherche sur des maladies jugées prioritaires par les partenaires chinois et européens. Ce projet a été construit sur des collaborations développées depuis dix ans entre la Chine et l'Europe, notamment celles portées par le Cirad en Chine et en Asie du Sud-Est. L'objectif à moyen terme est de faciliter l'insertion des partenaires chinois dans une logique de réseau et de projets de recherche régionaux et internationaux et de renforcer ainsi la gestion des maladies animales et zoonotiques transfrontalières.

Mots-clés

Europe, Chine, maladies animales, zoonoses, LinkTADs

Abstract

EU-China animal health collaboration: the LinkTADs project and other activities conducted by CIRAD

Today, China is the largest producer of animal-based products, and the surveillance of animal and zoonotic diseases is therefore an international challenge for the country. In order to strengthen collaborations with China in this area, a coordination initiative, known as the LinkTADs project, has been launched by the European Union. This project, coordinated by FAO, has already enabled identification of the main research needs for those diseases considered to be a main priority by both the Chinese and European partners. This project was built on collaborations developed over the last ten years between Europe and China, in particular collaborations involving CIRAD in China and South-East Asia. The medium-term goal of the project is to facilitate the integration of the Chinese partners into a network-based system, and one based on regional and international research, and in so doing to reinforce the management of cross-border animal and zoonotic diseases.

Keywords

Europe, China, Animal diseases, Zoonoses, LinkTADs

La Chine est aujourd'hui le premier producteur mondial de produits animaux, avec notamment plus de 6,5 milliards de volailles, plus de 500 millions de bovins, ovins et caprins produits chaque année et la moitié de la production mondiale de porcs avec environ 500 millions d'animaux par an. Ces niveaux de production s'accompagnent de très fortes densités d'animaux pouvant favoriser l'émergence et/ou la diffusion d'agents pathogènes. La surveillance et le contrôle de maladies animales et zoonotiques en Chine est donc un enjeu clé de la sécurité alimentaire au niveau mondial. Bien que la majorité de sa production animale soit destinée au marché intérieur, l'émergence et la circulation d'agents pathogènes en Chine – telles que les différentes souches d'influenza aviaires apparues ces dernières années (Peyre *et al.*, 2015) – constitue un risque à l'échelle internationale, en particulier pour ses proches voisins comme les pays d'Asie du Sud-Est en plein développement économique, mais également pour l'Europe malgré des systèmes de surveillance plus perfectionnés, tel qu'illustré par la propagation en 2005 du virus influenza aviaire hautement pathogène H5N1 originaire du sud de la Chine, à travers le commerce de volaille et les migrations d'oiseaux sauvages.

Afin de renforcer les collaborations entre l'Union européenne et la Chine, une action de coordination a été lancée fin 2013 dans le cadre du 7^e programme cadre recherche-développement technologique de l'Union européenne. Le projet LinkTADs (Linking Epidemiology and Laboratory Research on Transboundary Animal Diseases and Zoonoses in China and Europe, www.linktads.com), regroupe un consortium sino-européen de onze instituts, ayant comme objectif principal d'aider la coordination des projets de recherche européens et chinois dans le domaine des maladies animales et zoonotiques, et particulièrement la coordination de projets associant épidémiologie et techniques de laboratoire.

Prévu pour une durée de trois ans, le projet LinkTADs est coordonné par la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). Le Cirad (Centre de coopération internationale en

recherche agronomique pour le développement) et son unité de recherche AGIRs (Animal et gestion intégrée des risques) implantée en Asie du Sud-Est coordonne le volet épidémiologie du projet LinkTADs en partenariat avec le CAHEC (China Animal Health and Epidemiology Center). A mi-parcours (avril 2015), le projet LinkTADs a permis d'organiser des réunions et ateliers de coordination entre partenaires chinois et européens, et d'identifier les maladies animales et zoonotiques considérées comme prioritaires en Europe et en Chine via la consultation d'experts chinois et européens et la revue des publications scientifiques récentes dans le domaine.

Ainsi, l'influenza aviaire (Cappelle *et al.*, 2014), la peste porcine africaine (Cirad, 2010), la rage et la brucellose sont considérées comme hautement prioritaire à la fois en Europe et en Chine, de même que la résistance des bactéries aux antibiotiques qui est considérée comme importante par les deux parties. La tuberculose bovine, la fièvre aphteuse et la fièvre catarrhale ovine sont considérées comme hautement prioritaires en Europe mais moins en Chine. À l'inverse, le syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (Wang *et al.*, 2015), la maladie de Newcastle, la peste porcine classique et la maladie d'Aujeszky sont hautement prioritaires en Chine mais moins en Europe. Enfin, la peste des petits ruminants et l'encéphalite japonaise (Tarantola *et al.*, 2014) sont des sujets prenant de l'importance en Chine.

À partir de la revue de 720 publications scientifiques récentes (360 pour la Chine et 360 pour l'Europe), les premiers résultats du projet LinkTADs montrent que la majorité de la recherche européenne en santé animale se concentre sur les bovins, alors que la recherche chinoise se concentre sur les porcs et les volailles. Près des trois quarts de la recherche en santé animale chinoise est menée en laboratoire, alors que la répartition entre recherche en laboratoire et recherche en épidémiologie est plus équilibrée en Europe. Les laboratoires scientifiques chinois sont globalement très compétents dans le domaine des biotechnologies ou de la biologie moléculaire. Ils sont par contre demandeurs de formations en épidémiologie, notamment

appliquée, pour améliorer leur capacité de surveillance, d'intervention de terrain et d'analyse des risques.

Afin de renforcer les collaborations entre Chine et Europe en mêlant épidémiologie et recherche en microbiologie-immunologie, un atelier a été organisé à Qingdao en avril 2015 dans le cadre du projet LinkTADs afin d'identifier les principaux besoins de recherche sur ces maladies prioritaires. Les partenaires du projet LinkTADs ont mis en œuvre des méthodes participatives afin de s'accorder sur des projets de recherche à mettre en œuvre en partenariat. Des notes de synthèse issues de cette réunion sont en préparation. Celles-ci serviront de base à la construction de projets devant au minimum : 1) associer un partenaire chinois et un européen, et 2) inclure de l'épidémiologie et un laboratoire. Ces projets sont ouverts à d'autres partenaires internationaux que les membres du consortium LinkTADs afin de renforcer le réseau de collaboration Chine – Europe sur les maladies animales et zoonotiques. Cette initiative a déjà permis le montage et le financement par le ministère chinois des sciences et technologie d'un projet de recherche sur l'encéphalite japonaise associant deux laboratoires chinois (le Shanghai Veterinary Research Institute - SHVRI) et suédois (National Veterinary Institute – SVA) et l'Unité AGIRs du Cirad pour le volet épidémiologie.

En parallèle de ce travail de priorisation et de coordination de la recherche, le projet LinkTADs aide également à la coordination des formations en épidémiologie en s'appuyant sur des initiatives préexistantes telles que le programme FETPv (Field Epidemiology Training Program for Veterinarians) issu des CDC américains. Le Cirad avait participé entre 2010 et 2012 aux premiers ateliers de ce programme FETPv en collaboration avec la FAO et le Royal Veterinary College (RVC, Université de Londres) avant le lancement du projet LinkTADs.

Les activités du projet LinkTADs se font ainsi dans la continuité de collaborations antérieures dans le domaine des maladies animales et zoonotiques entre la Chine et l'Europe, et particulièrement avec le Cirad en France. Ainsi, en réponse à la crise liée au virus influenza hautement pathogène H5N1, des ateliers financés par la FAO sur l'épidémiologie de la maladie et sa surveillance avaient été menés par des chercheurs du Cirad, soit de façon régionale (Qingdao 2005) soit pour les services vétérinaires locaux de différentes provinces chinoises (2009-2010). Une expertise sur la stratégie de vaccination contre le virus H5N1 avait été réalisée pour la FAO ECTAD Chine en 2009. Une formation à l'analyse de risque pour des médecins et des spécialistes de la santé publique avait été mise en place à la demande de l'OMS (Cirad, 2013). Plus récemment une *master class* (Projet FP7 SEA-EU-NET) organisée par le Cirad dans le domaine du « *One Health* » a associé une étudiante chinoise de l'Institut des maladies parasitaires du Jiangsu et l'organisation d'une seconde *master class* régionale (Chine et Asie du Sud-Est) est envisagée dans le cadre du projet LinkTADs.

Depuis 2009, le Cirad coopère avec l'Université de Hong-Kong (HKU, School of Public Health) et son Pasteur Research Pole (HKU-PRP) dans les domaines des virus influenza aviaires et porcins, en collaboration avec ses partenaires vietnamiens (NIVR) et Lao (National University of Lao PDR) (Trevennec *et al.*, 2011; Baudon *et al.*, 2014; Baudon *et al.*, 2015), en particulier au travers de thèses d'université co-encadrées. Plus récemment, une collaboration internationale sur le MERS-CoV (Middle-East Respiratory Syndrome-Coronavirus) et ses potentiels réservoirs animaux a été mise en place entre HKU-PRP, le Cirad et des partenaires asiatiques et africains.

Par ailleurs, l'UMR IRD-Cirad InterTryp et son équipe présente en Thaïlande collabore dans le domaine du surra (*Trypanosoma evansi*) avec l'Université de Sun Yat-Sen de Guangzhou (Canton), province du Guangdong (Carnes *et al.*, 2015).

À travers l'organisation d'événements (ateliers, *master class*, formations) invitant également ces différents partenaires, le projet LinkTADs permettra de renforcer des liens à l'échelle régionale entre les partenaires chinois du projet et le Cirad, et ses partenaires en Asie du Sud-Est.

La Chine, acteur clé de la sécurité alimentaire au niveau mondial, est un partenaire incontournable en termes de développement au Sud, en Asie du Sud-Est en particulier (Desvaux *et al.*, 2014). Le dispositif en partenariat GREASE (Gestion des risques émergents en Asie du Sud-Est, www.grease-network.org), lancé par le Cirad en 2009, est un réseau régional visant à appuyer la recherche pour une meilleure gestion des risques épidémiques émergents en Asie du Sud-Est. Le développement de collaborations avec la Chine, en particulier avec les provinces méridionales du Yunnan et du Guangxi, est donc stratégique pour le réseau GREASE : les différentes initiatives citées précédemment vont dans ce sens.

Les projets tel que LinkTADs permettent de développer des contacts et des liens avec les universités et les centres de recherche chinois pertinents. Cela permettra à moyen terme de faciliter l'insertion de ces partenaires chinois dans une logique de réseau et de projets de recherche régionaux, et de renforcer ainsi la gestion des maladies animales et zoonotiques transfrontalières en Asie du Sud-Est, l'un des objectifs principaux du réseau GREASE.

Ces différentes collaborations permettent aussi de participer pour la zone Chine à la Veille sanitaire internationale (VSI) de la Plateforme française d'épidémiologie en santé animale (Plateforme ESA : http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=433&Itemid=323) dont la mission est d'identifier, suivre et analyser les signaux des dangers sanitaires (en santé animale au sens large) menaçant le territoire français dans son ensemble, dans un but de production d'information sanitaire à des fins d'évaluation du risque d'une part (par l'Anses), et de gestion du risque d'autre part (par la DGAL). Cette veille permet également de partager des informations officielles et officieuses sur le statut des principales maladies animales et zoonotiques ainsi que sur le niveau d'information et la surveillance de ces maladies (Tableau 1).

Tableau 1. Statut de la présence et de la surveillance des principales maladies animales et zoonotiques d'intérêt sanitaire en Chine et en France. Les maladies en gras ont été prioritaires par le projet LinkTADs

Maladie	Présence en Chine	Surveillance*
Brucellose à <i>B. abortus</i>	Oui	Surveillance
Brucellose à <i>B. melitensis</i>	Oui	Surveillance
Clavelée et variole caprine	Oui	Surveillance
Encéphalite à virus Nipah	Non	Vigilance
Encéphalite équine vénézuélienne (EEV)	Non	Non prioritaire
Encéphalite japonaise (EJ)	Oui	Surveillance
Encéphalite West Nile (WN)	Non	Vigilance
Fièvre aphteuse (FA)	Oui	Surveillance
Fièvre catarrhale ovine (FCO)	Oui	Non prioritaire
Fièvre de la vallée du Rift (FVR)	Non	Vigilance
Fièvre hémorragique Crimée Congo (FHCC)	Non	Pas d'information
Grippe équine	Oui	Surveillance
Influenza aviaire hautement pathogène (IA HP)	Oui	Surveillance
Maladie hémorragique épizootique (EHD)	Non	Non prioritaire
Maladie vésiculeuse de suidés (MVS)	Non	Pas d'information
Myiase à <i>Cochliomyia hominivorax</i>	Non	Pas d'information
Péripneumonie contagieuse bovine (PPCB)	Non	Vigilance
Peste des petits ruminants (PPR)	Oui	Surveillance
Peste équine (PE)	Non	Vigilance
Peste porcine africaine (PPA)	Non	Vigilance
Peste porcine classique (PPC)	Oui	Surveillance
Pleuropneumonie contagieuse caprine (PPCC)	Oui	Surveillance
Rage	Oui	Surveillance
Trypanosomose à <i>T. evansi</i> (surra)	Oui	Pas d'information

*Surveillance = Dispositif de surveillance programmée (et/ou événementielle) et éventuellement programme de lutte avec un suivi de la situation dans la région, Vigilance = Dispositif de surveillance événementielle avec un suivi de la situation dans la région, Non prioritaire = aucune surveillance.

Pour conclure, cette collaboration s'inscrit dans un double objectif qui est d'améliorer la prévention sanitaire d'une part à l'échelle régionale (Asie du Sud-Est) et d'autre part au niveau international (Europe et France). Dans cette logique, l'implication d'autres institutions françaises comme l'Anses, l'Institut national de la recherche agronomique (Inra), le réseau international des Instituts Pasteur ou l'Institut de recherche pour le développement (IRD) est à développer.

Références bibliographiques

Baudon, E., Fournié, G., Hiep, D.T., Pham, T.T.H., Duboz, R., Gély, M., Peiris, M., Cowling, B.J., Ton, V.D., Peyre, M., 2015. Analysis of Swine Movements in a Province in Northern Vietnam and Application in the Design of Surveillance Strategies for Infectious Diseases. *Transbound. Emerg. Dis.* n/a–n/a. doi:10.1111/tbed.12380.

Baudon, E., Poon, L.L., Dao, T.D., Pham, N.T., Cowling, B.J., Peyre, M., Nguyen, K.V., Peiris, M., 2014. Detection of Novel Reassortant *Influenza* A (H3N2) and H1N1 2009 Pandemic Viruses in Swine in Hanoi, Vietnam. *Zoonoses Public Health* n/a–n/a. doi:10.1111/zph.12164.

Cappelle, J., Zhao, D., Gilbert, M., Nelson, M., Newman, S., Takekawa, J., Gaidet, N., Prosser, D., Liu, Y., Li, P., Shu, Y., Xiao, X., 2014. Risks of Avian *Influenza* Transmission in Areas of Intensive Free-Ranging Duck Production with Wild Waterfowl. *EcoHealth* 1–11. doi:10.1007/s10393-014-0914-2.

Carnes, J., Anupama, A., Balmer, O., Jackson, A., Lewis, M., Brown, R., Cestari, I., Desquesnes, M., Gendrin, C., Hertz-Fowler, C., Imamura, H., Ivens, A., Kořený, L., Lai, D.H., MacLeod, A., McDermott, S.M., Merritt, C., Monnerat, S., Moon, W., Myler, P., Phan, I., Ramasamy, G., Sivam, D., Lun, Z.R., Lukeš, J., Stuart, K., Schnauffer, A. (2015). Genome and phylogenetic analyses of *trypanosoma evansi* reveal extensive similarity to *T. brucei*

and multiple independent origins for dyskinetoplasty. *PLoS Negl Trop Dis.* 9(1):e3404. doi: 10.1371/journal.pntd.0003404

Cirad, 2010. La peste porcine africaine: une menace pour les élevages du Sud. <http://www.cirad.fr/nos-recherches/resultats-de-recherche/2009/la-peste-porcine-africaine-une-menace-pour-les-elevages-du-sud>.

Cirad, 2013. *One Health*: des vétérinaires forment des médecins en Chine. http://www.cirad.fr/cirad_fr/actualites/toutes-les-actualites/articles/2013/science/one-health-une-sante-des-veterinaires-forment-des-medecins-en-chine.

Desvaux, S., Nguyen, C.O., Vu, D.T., Henriquez, C., Ky, V.D., Roger, F., Fenwick, S., Goutard, F., 2014. Risk of Introduction in Northern Vietnam of HPAI Viruses from China: Description, Patterns and Drivers of Illegal Poultry Trade. *Transbound. Emerg. Dis.* doi:10.1111/tbed.12279.

Peyre, M., Gaidet, N., Caron, A., Cappelle, J., Tran, A., Roger, F., 2015. *Influenza* aviaire dans le monde: situation au 31 janvier 2015. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.* 67, 10–14.

Tarantola, A., Goutard, F., Newton, P., de Lamballerie, X., Lortholary, O., Cappelle, J., Buchy, P., 2014. Estimating the Burden of Japanese Encephalitis Virus and Other Encephalitides in Countries of the Mekong Region. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e2533. doi:10.1371/journal.pntd.0002533.

Trevenec, K., Cowling, B.J., Peyre, M., Baudon, E., Martineau, G.-P., Roger, F., 2011. Swine *influenza* surveillance in East and Southeast Asia: a systematic review. *Anim. Health Res. Rev.* 12, 213–223. doi:10.1017/S1466252311000181.

Wang, J., Wen, H., Wang, S., Sun, W., Shen, N., Liu, Z., Liu, Y., Liu, Y., Jiang, C., Sun, G., Goutard, F., Cai, X., 2015. Preliminary Study on Prevalence, Risk Factor and Genetic Homogeneity of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Registered Pig Farms in Heilongjiang, China. *Transbound. Emerg. Dis.* n/a–n/a. doi:10.1111/tbed.12312.

Erratum

BE 69 juin 2015

Une erreur s'est glissée dans la brève « Échinococcose kystique en Corse : identification d'*Echinococcus canadensis* chez le Chien » de Sébastien Grech-Angelini *et al.*

La phrase qui donne l'estimation de la prévalence de l'échinococcose canine en Corse a sauté de la version finale de l'article : « *La prévalence globale apparente de l'échinococcose canine dans les zones échantillonnées est donc de 1,16 % (IC95% : 0,24 – 3,34).* »

L'erreur a été corrigée dans la version en ligne.

Nous vous prions de nous excuser pour cette erreur.

Le rédacteur en chef

Directeur de publication: Marc Mortureux
Directeur associé: Patrick Dehaumont
Comité de rédaction: Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Corinne Danan, Benoît Durand, Françoise Gauchard, Pascal Hendrikx, Paul Martin, Elisabeth Repérant, Sylvain Traynard
Rédacteur en chef: Didier Calavas
Rédactrice en chef adjointe: Clara Marcé

Secrétaire de rédaction: Vera Vavilova-Kant
Responsable d'édition: Fabrice Coutureau
Assistante d'édition: Céline Leterq
Webmaster du site du BE: Julien Vigneron
Anses - www.anses.fr
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bulletin.epidemi@anses.fr
Conception et réalisation: Parimage
Crédits photos: Anses, Fotolia
Impression: Bialec
65 boulevard d'Austrasie - 54000 Nancy
Tirage: 3 500 exemplaires
Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018

