



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25416

To cite this version:

Le Gall-Ladeveze, Chloé . *Tuberculose bovine en forêt de Brotonne : évolution de la situation épidémiologique et performance de la surveillance de la maladie chez le sanglier*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 74 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

TUBERCULOSE BOVINE EN FORET DE BROTONNE : EVOLUTION DE LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE ET PERFORMANCE DE LA SURVEILLANCE DE LA MALADIE CHEZ LE SANGLIER

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

LE GALL-LADEVEZE Chloé
Née, le 17 septembre 1992 à TALENCE (33)

Directeur de thèse : Mme Mathilde PAUL

JURY

PRESIDENT :
M. Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Mathilde PAUL
M. Timothée VERGNE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M. Guillaume LE LOC'H

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Gérard Campistron

Professeur des Universités à Toulouse III Paul Sabatier

Praticien Hospitalier au Centre Hospitalier Universitaire de Purpan

Physiologie-Hématologie

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Madame la Docteure Mathilde Paul

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la direction de ma thèse.

Pour le soutien et la disponibilité.

Remerciements chaleureux.

A Monsieur le Docteur Timothée Vergne

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Maladies réglementées

Qui m'a fait l'honneur d'accepter de juger ma thèse.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Guillaume Le Loc'h

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la faune sauvage et des nouveaux animaux de compagnie

Qui a très aimablement accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Remerciements chaleureux.

A Mesdames la Docteure Stéphanie Desvaux et la Docteure Sophie Rossi

Chargées d'études à l'Unité Sanitaire de la Faune de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

Qui m'ont fait l'honneur de m'encadrer au cours de mon stage de master.

Pour le temps précieux passé à me guider et me soutenir dans ce travail.

Remerciements chaleureux.

Aux partenaires scientifiques à l'ONCFS, à l'ONF, au LAVD76, à la DDPP76, à l'Anses
pour leur disponibilité à mes interrogations et pour m'avoir transmis leurs données.

Table des matières

Table des illustrations	10
Liste des abréviations.....	12
Introduction.....	13
Partie I - La tuberculose bovine dans la faune sauvage dans le monde, en France et en forêt de Brotonne ...	14
I.A - Tuberculose bovine chez les espèces domestiques et sauvages	14
I.B - Situation épidémiologique en France	15
I.C - Programmes de surveillance en France	17
I.C.1 - Surveillance des élevages	17
I.C.2 - Surveillance de la faune sauvage.....	18
<i>I.C.2.a - Origine et organisation du dispositif Sylvatub</i>	<i>18</i>
<i>I.C.2.b - Méthodologie de la collecte des prélèvements</i>	<i>19</i>
<i>I.C.2.c - Analyses diagnostiques au laboratoire.....</i>	<i>21</i>
<i>I.C.2.d - Limites de la surveillance de la faune sauvage</i>	<i>21</i>
I.D - Historique de surveillance et de gestion dans le massif de Brotonne-Mauny.....	22
I.E - Problématique et hypothèses abordées	24
Partie II - Evolution de la situation de la tuberculose bovine chez le sanglier en forêt de Brotonne (2001-2017)	26
II.A - Matériel et méthodes.....	26
II.A.1 - Territoire d'étude, acteurs et protocoles d'échantillonnage.....	26
II.A.2 - Protocole du diagnostic de laboratoire.....	28
II.A.3 - Préparation des données.....	29
<i>II.A.3.a - Consolidation de la base de données</i>	<i>29</i>
<i>II.A.3.b - Détermination du seuil de poids discriminant les classes d'âge.....</i>	<i>32</i>
II.A.4 - Analyses spatio-temporelles de l'infection	33
<i>II.A.4.a – Préparation des données</i>	<i>33</i>
<i>II.A.4.b - Analyse de l'évolution spatio-temporelle de l'infection par M. bovis.....</i>	<i>33</i>
<i>II.A.4.c - Cartographie des animaux infectés</i>	<i>34</i>

II.B - Résultats	35
II.B.1 - Exploration des biais de l'échantillon	35
II.B.2 - Analyse exploratoire de l'évolution de l'infection.....	36
II.B.2.a - Exploration graphique des variables âge et saison de chasse	36
II.B.2.b - Exploration graphique des variables zone et saison de chasse	37
II.B.2.c - Exploration graphique de l'interaction entre l'âge, la zone et la saison de chasse	38
II.B.3 - Evolution spatio-temporelle de la proportion de sangliers infectés	39
II.C - Discussion	41
II.C.1 - Limites du jeu de données	41
II.C.2 - Pistes d'interprétation.....	42
II.D - Conclusion	44
Partie III - Performance et pistes d'amélioration du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine en forêt de Brotonne.....	45
III.A - Matériel et méthodes.....	45
III.A.1 - Territoire d'étude et protocole de dépistage	45
III.A.2 - Evaluation de la représentativité de l'échantillon.....	45
III.A.3 - Construction d'un indicateur de prévalence	46
III.A.4 - Performance du système de surveillance	48
III.A.4.a - Optimisation de la surveillance par la détection des lésions.....	48
III.A.4.b - Evaluation de la puissance de détection du système actuel	49
III.B - Résultats	50
III.B.1 - Evaluation de la représentativité de l'échantillon.....	50
III.B.2 - Construction d'un indicateur de prévalence	51
III.B.3 - Performance du système de surveillance	52
III.B.3.a - Optimisation de la surveillance par la détection des lésions.....	52
III.B.3.b - Evaluation de la puissance de détection du système actuel	54
III.C - Discussion	54
III.C.1 - Limites liées à l'échantillon chassé et au sous-échantillon étudié.....	54

III.C.2 - Performance de détection du dépistage basé sur les lésions en fonction du niveau de prévalence ...	55
III.C.3 - Interprétation relative des résultats des tests de laboratoire et des résultats de surveillance annuels dans le contexte de Brotonne	57
III.D - Conclusion	58
Partie IV - Conclusion générale	59
Références bibliographiques	61
Annexe 1 : Bilan des programmes de surveillance annuelle sur le massif de Brotonne-Mauny, issu des rapports d'enquête annuels.....	66
Annexe 2 : Extrait du tableau de données recomposé	67
Annexe 3 : Discrimination des classes d'âges en fonction du poids pour les saisons de chasse 2016 et 2017	68
Annexe 4 : Tableaux comparatifs des modèles linéaires généralisés de l'infection en fonction de la saison de chasse, de la zone de chasse, de la classe d'âge et des interactions de premier, second et troisième ordre entre ces variables.....	69
Annexe 5 : Comparaison de structure de l'échantillon par rapport à la population chassée sur la période 2005-2017.....	70
Annexe 6 : Proposition d'arbre de scénario pour le protocole appliqué de 2015 à 2017	72
Annexe 7 : Anatomopathologie de la tuberculose bovine chez le sanglier	73
Annexe 8 : Exemple type d'organisation de Sylvatub pour un département.....	74

Table des illustrations

Figure 1 - Distribution par commune des foyers de tuberculose bovine en France, de 2000 à 2013, et des départements où l'infection a été détectée dans la faune sauvage libre (Source : DGAL).	17
Figure 2 - Organigramme de Sylvatub. (Source : Rivière, 2016)	19
Figure 3 - Carte des niveaux de surveillance départementaux, mise à jour de mai 2017 (Source DGAL)	20
Figure 4 - Carte de l'historique d'identification de cas et de surveillance.....	25
Figure 5 - Situation et zonage du secteur d'étude.	27
Figure 6 - Evolution de la proportion d'individus de plus d'un an dans l'échantillon.....	36
Figure 7 - Evolution de la proportion d'infectés par classe d'âge entre 2005 et 2016	37
Figure 8 - Evolution de la proportion d'infectés par âge et zone	39
Figure 9 - Distribution comparée des variables d'intérêt entre population chassée et échantillonnée, cumulé de 2005 à 2017.....	50
Figure 10 - Evolution comparée de la prévalence apparente et de la prévalence ajustée par la sensibilité et le poids d'échantillonnage par zones.....	51
Figure 11 - Evolution comparée des proportions de porteurs de lésions et d'infectés par des mycobactéries	53
Figure 12 - Evolution des proportions apparentes d'infectés parmi les différentes espèces surveillées au cours du temps.....	66
Figure 13 - Distribution statistique du poids par classes d'âge et de sexe	68
Figure 14 - Densités de poids selon la classe d'âge pour les saisons 2016-2017 et 2017-2018	68
Figure 15 - Proportion de classifications d'âge correctes selon le seuil de poids	68
Figure 16 - Evolution comparée de la proportion de femelles dans l'échantillon et la population chassée.....	70
Figure 17 - Evolution comparée de la proportion d'« adultes » (>50kg) dans l'échantillon et la population chassée	70
Figure 18 - Evolution comparée de la proportion d'individus provenant de chaque zone dans l'échantillon et la population chassée	71
Figure 19 - Proposition d'arbre de scénario pour le protocole appliqué de 2015 à 2017 (adapté d'après Rivière et al. 2015)	72
Figure 20 - Anatomie des nœuds lymphatiques céphaliques et glandes salivaires du porc comparée au sanglier	73
Figure 21 - Différents types de lésions de tuberculose selon l'échelle de scores établie par le protocole de Brotonne.....	73
Figure 22 - Fiche réflexe départementale pour la surveillance du grand gibier. D'après les documents de la plateforme ESA sur www.plateforme-esa.fr	74

Tableau 1 - Modalités de surveillance appliquées selon le niveau de risque départemental (Source : DGAL)	20
Tableau 2 - Arbre de décision pour le statut infectieux vis-à-vis de <i>M. bovis</i>	31
Tableau 3 - Distribution des individus infectés par <i>M. bovis</i> dans l'échantillon	35
Tableau 4 - Effectifs par saison et zone dans l'échantillon	37
Tableau 5 - Evolution de la proportion d'infectés par zone entre 2005 et 2016	38
Tableau 6 - Paramètres explicatifs de l'infection selon le modèle sous l'hypothèse du risque géographique par adjudicataire (AIC = 589,05)	40
Tableau 7 - Paramètres explicatifs de l'infection selon le modèle sous l'hypothèse du risque géographique par proximité avec des foyers bovins (AIC = 588,91)	40
Tableau 8 - Evolution des effectifs d'individus porteurs de lésions et infectés au cours de la période d'étude	53
Tableau 9 - Evolution du protocole de prélèvement et de diagnostic de laboratoire, des sensibilités individuelles du diagnostic et des valeurs prédictives positives de l'observation de lésions au cours de la période d'étude	53
Tableau 10 - Puissance de détection du programme de surveillance de la tuberculose bovine chez les sangliers, comparée entre Brotonne et Côte d'Or	54
Tableau 11 - Pourcentages d'individus confirmés infectés par <i>M. bovis</i> au Laboratoire National de Référence. (Source Rapports d'enquête annuels 2002-2017)	66
Tableau 12 - Extrait du tableau de données recomposé	67
Tableau 13 - Regroupement des zones par adjudicataire et proximité avec des bois privés moins échantillonnés	69
Tableau 14 - Regroupement des zones par proximité avec des foyers bovins identifiés entre 2003 et 2017	69

Liste des abréviations

Adilva : Association des Directeurs et cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Coop de France : Coopération Agricole

DDPP76 : Direction Départementale de la Protection des Populations de Seine Maritime

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation du Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation

DGALN : Direction Générale de l'Aménagement, du Logement et de la Nature

FNC : Fédération Nationale des Chasseurs

GDS France : Fédération nationale des Groupements de Défense Sanitaire

IFN- γ : Interféron gamma

LAVD76 : Laboratoire Agro-Vétérinaire Départemental de Seine Maritime

LDA : Laboratoire Départemental d'Analyses

LNR : Laboratoire National de Référence pour la tuberculose

ONCFS : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

ONF : Office National des Forêts

SNGTV : Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires

USF : Unité Sanitaire de la Faune de l'ONCFS

Introduction

La forêt de Brotonne (Seine Maritime et Eure) offre un contexte unique de surveillance et de gestion au long terme de la tuberculose bovine dans la faune sauvage. Cette maladie, zoonotique et réglementée, fait l'objet de lutte et de surveillance dans les élevages bovins français depuis 1955 dans le but de l'éradiquer et d'obtenir un statut indemne. Ce statut est acquis par la France depuis 2001, mais la prévalence a ensuite progressivement augmenté, faisant craindre une perte de certification pour le pays (Cavalerie et al. 2014). Par ailleurs, l'infection a été décrite dans plusieurs espèces sauvages dans le monde depuis les années 1960, mais jamais en France (Dufour et al. 2011). C'est dans ce contexte que la forêt de Brotonne fut le lieu de découverte en 2001 du premier foyer sauvage français de tuberculose bovine, chez des cerfs (*Cervus elaphus*). Les enquêtes épidémiologiques consécutives ont révélé des niveaux de prévalence élevés chez les cerfs et les sangliers (*Sus scrofa*), autour de 30%. Au terme d'un travail d'expertise et de modélisation (Zanella et al. 2012), des mesures visant à éradiquer ce foyer sauvage ont été mises en place dans ce massif forestier clos par la Seine et une autoroute. La population de cerfs, considérée comme réservoir de la maladie a ainsi été éradiquée par le biais de tirs renforcés, et la population de sangliers, considérée comme hôte de liaison, a été diminuée. Les enquêtes de surveillance programmée annuelles à partir de 2005 ont montré que ces mesures ont eu un effet radical en réduisant la prévalence apparente chez les sangliers de 37% en 2005 à moins de 1% en 2009 (*Rapports d'enquête annuels 2002-2017*). Cependant, bien que les cerfs soient éradiqués et qu'aucun foyer bovin n'ait été identifié au voisinage du massif depuis 2013, l'infection se maintient entre 0,5% et 3% de prévalence apparente chez les sangliers depuis 2009. Cela pose des questions sur les causes de la persistance de la tuberculose bovine, ainsi que sur les mesures à mettre en œuvre pour contrôler ce phénomène. Un bilan analytique de l'évolution spatio-temporelle sur les 12 ans passés de surveillance de l'infection, ainsi qu'une évaluation des performances du dispositif de surveillance dans un contexte épidémiologique changeant sont donc requis.

Partie I - La tuberculose bovine dans la faune sauvage dans le monde, en France et en forêt de Brotonne

I.A - Tuberculose bovine chez les espèces domestiques et sauvages

La tuberculose bovine, causée principalement par le bacille de l'espèce *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), est une maladie infectieuse et contagieuse pouvant affecter de multiples espèces animales dont l'Homme, et présente sur tous les continents (OIE 2018; de Lisle, Mackintosh, Bengis 2001). Les bovins sont le principal réservoir de la bactérie, qui provoque essentiellement des infections chroniques avec un portage asymptomatique pouvant durer des années, et des symptômes cliniques rares et frustes : baisse d'état général et de production essentiellement. Les symptômes provoqués par *M. bovis* peuvent de plus être confondus avec des infections causées par diverses bactéries ou parasites, ce qui rend le diagnostic clinique de la tuberculose bovine quasiment impossible (Praud, Bénet 2017). L'infection est de ce fait principalement détectée *ante mortem* par des tests immunologiques tels que l'intra-dermo réaction à la tuberculine (IDT) ou par détection de la production d'interféron gamma (IFN- γ) (Praud, Bénet 2017). Cependant, la spécificité des dépistages immunologiques est faible car de nombreuses réactions croisées peuvent avoir lieu avec d'autres mycobactéries pathogènes des complexes tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. caprae*, *M. microti*...) et avium (*M. avium*, *M. avium paratuberculosis*...). Ces méthodes sont complétées par le dépistage *post mortem* de lésions typiques mais non systématiques chez les individus infectés, ou par mise en évidence de la présence de l'agent pathogène dans les organes cibles par culture ou PCR. De même, la spécificité des lésions est faible car elles peuvent être confondues avec celles provoquées par ces mêmes mycobactéries mais aussi des bactéries d'autres familles telles que des corynébactéries (McKenzie, Donald 1979), des streptocoques ou des colibacilles (Clapp 1956; Cardoso-Toset et al. 2015), ou encore des parasites pulmonaires ou digestifs. La mise en évidence en laboratoire par culture ou PCR de l'agent pathogène reste donc la méthode de référence pour le dépistage de la tuberculose bovine (OIE 2012).

Le tubercule caséeux représente la lésion type, l'immunité cellulaire de l'hôte enfermant les bactéries viables mêlées au caséum dans une coque inflammatoire. Cette lésion circonscrite peut évoluer selon les compétences immunitaires de l'hôte soit en calcification avec fibrose périphérique où les bactéries sont neutralisées, soit en abcès permettant la diffusion des bactéries à d'autres parties de l'organisme par voie lymphatique (Praud, Bénet 2017; Biet et al. 2005). Les organes cibles varient selon les espèces et les voies de contamination, la bactérie s'installant préférentiellement dans les organes d'entrée et leurs nœuds lymphatiques drainants (Biet et al. 2005; Domingo, Vidal, Marco 2014). Les lésions chez les bovins sont le plus fréquemment observées dans les nœuds lymphatiques céphaliques, thoraciques et mésentériques, ainsi que dans les poumons (Domingo, Vidal, Marco 2014). En effet, la contamination se fait principalement chez eux par inhalation d'aérosols ou ingestion de matériaux contaminés. Les sources de contamination sont

nombreuses, les bactéries pouvant être excrétées par les divers organes contaminés et se retrouvant ainsi dans le lait, la salive, l'urine, ou encore les excréments. Ces matières contaminées peuvent alors être directement ingérées ou inhalées, mais aussi se disperser dans l'environnement des animaux où les mycobactéries peuvent y rester viables jusqu'à plusieurs mois dans des conditions favorables d'humidité, température et composition chimique du substrat (Maddock 1933; Courtenay et al. 2006; Bouchez-Zacria et al. 2017). L'ingestion directe d'organes infectés crus ou mal cuits peut évidemment être source de contamination chez les espèces omnivores ou carnivores.

Bien qu'infectant préférentiellement les bovins, la bactérie peut infecter, avec des manifestations cliniques semblables, d'autres espèces de mammifères domestiques telles que les petits ruminants, les porcs, les chevaux et les carnivores, mais aussi des espèces sauvages comme les blaireaux, les renards, les cervidés ou les sangliers en Europe (de Lisle, Mackintosh, Bengis 2001). Selon la configuration du système multi-hôte local, de la densité des populations et de l'écologie, ces espèces peuvent jouer un rôle dans la transmission de *M. bovis* (on parle d'hôtes de liaison) ou peuvent entretenir de façon autonome la bactérie (on parle alors d'hôtes réservoirs) (Payne 2014). Bien qu'ayant été considérés comme réservoirs de tuberculose bovine en Péninsule Ibérique (Santos et al. 2012) et en Sicile (Di Marco et al. 2012), les sangliers n'ont jamais démontré ce caractère en France (Payne 2014) et en particulier pas en forêt de Brotonne. Le comportement alimentaire fouisseur et charognard occasionnel des sangliers les expose particulièrement fréquemment à l'infection, et l'espèce est connue pour sa sensibilité à *M. bovis* développant donc des lésions visibles (Pesciaroli et al. 2014). Celles-ci sont ensuite facilement et rapidement détectées au cours des campagnes de chasse que les populations de sangliers subissent chaque hiver. Ils ont ainsi été utilisés comme sentinelles de la circulation environnementale de la bactérie en Nouvelle Zélande (Nugent, Gortazar, Knowles 2015). Le profil lésionnel de l'infection chez cette espèce en forêt de Brotonne montre cependant une bonne immunisation cellulaire, avec des lésions en faible nombre, de petites tailles et bien circonscrites, limitant l'excrétion et la diffusion de la bactérie (Zanella, Duvauchelle, et al. 2008) (Annexe 7 Figure 21) et confirmant son statut d'hôte de liaison. Au contraire chez les cervidés, le statut d'hôte réservoir est avéré dans la Péninsule Ibérique (Santos et al. 2012), mais aussi dans le Michigan (O'Brien et al. 2002). En forêt de Brotonne les cerfs ont été considérés comme réservoirs secondaires, ayant acquis l'infection auprès des bovins ou par l'intermédiaire des sangliers, et exprimant des lésions souvent multifocales, mal circonscrites et permettant une excrétion importante de mycobactéries (Zanella, Duvauchelle, et al. 2008).

I.B - Situation épidémiologique en France

La tuberculose bovine est une maladie réglementée en France, c'est-à-dire faisant l'objet de déclaration obligatoire et de mesures de police sanitaire. Son statut de maladie réglementée est principalement lié au risque zoonotique qu'elle représente, ainsi qu'aux pertes économiques qu'elle engendre dans les élevages infectés.

En effet, bien que minoritaire parmi les cas de tuberculose humaine en France, avec 198 souches *M. bovis* parmi les 9397 cas de tuberculose humaine recensés entre 2011 et 2016 (soit environ 2% des cas) (Lepesqueux et al. 2018), la tuberculose bovine zoonotique engendre des conséquences médicales lourdes chez les patients infectés (Delaune et al. 2012). En élevage, les pertes économiques peuvent être directes avec les baisses de production laitière, les pertes de poids ou encore les infertilités liées à l'infection, mais aussi indirectes avec le déclasserment des produits et la restriction d'accès à certains débouchés commerciaux sur le marché national et international. Du fait de son caractère réglementé, les conséquences de la tuberculose bovine sont en réalité bien plus importantes pour l'économie publique, puisqu'on y ajoute les frais de dépistage dans le cadre de programmes de surveillance nationaux, mais aussi les frais d'assainissement et d'indemnisation pour chaque foyer infecté qui s'élevaient en 2014 à 107 000€ en moyenne par foyer (Cavalerie et al. 2014). La lutte nationale pour éradiquer la tuberculose bovine de France et obtenir le statut indemne a débuté en 1955, et le pays est devenu officiellement indemne en 2001 en passant sous le seuil de prévalence troupeaux de 0,1%. Cependant, cette prévalence a montré une augmentation depuis 2004 avec une persistance de foyers dans certaines régions (en particulier les départements de Côte d'Or et Dordogne) ce qui constitue une menace pour le statut indemne de la France et donc pour le commerce international de la filière bovine française.

Parallèlement à ce contexte épidémiologique en élevage, la tuberculose a été détectée dans la faune sauvage française pour la première fois en 2001. Trois cerfs chassés en forêt de Brotonne (Seine-Maritime et Eure) présentaient des lésions suspectes qui, après analyses microbiologiques, se sont avérées être causées par *M. bovis*, et de la même souche que celle qui circulait dans les foyers bovins alentours depuis 1995 (Zanella, Durand, et al. 2008). Depuis, d'autres foyers sauvages ont été identifiés en France, présentant tous un fort lien géographique avec des foyers bovins (Richomme et al. 2013), en particulier dans les régions de persistance de la maladie où la surveillance est accrue (Cavalerie et al. 2014) (Figure 1). Ainsi, comme ce fut le cas en forêt de Brotonne, une surveillance programmée a été mise en place suite à la découverte des premiers cas dans la faune sauvage dans les départements de Côte d'Or, de Dordogne, des Pyrénées Atlantiques et de la Corse. Cette surveillance s'est particulièrement poursuivie annuellement en Côte d'Or depuis 2002, car la situation épidémiologique du cheptel bovin s'y aggravait et des sangliers puis des blaireaux ont été trouvés infectés à partir de 2007, en nombre plus important dans l'une des régions au sud du département (Hars et al. 2011). La situation épidémiologique dans le département de Côte d'Or est donc, à plus grande échelle, proche de celle observée en forêt de Brotonne, avec une faune sauvage et particulièrement des sangliers fortement infectés par les foyers bovins environnants, et constituant un système d'hôtes où le rôle épidémiologique de l'espèce est questionné. De plus, le parallèle se prolonge encore récemment puisqu'une surveillance programmée de la faune sauvage y est réalisée depuis plus de 10 ans, permettant d'avoir du recul sur

l'évolution de la situation, et montrant une persistance des foyers sauvages malgré les mesures de contrôle similaires mises en place depuis des années.

La constitution de réservoirs sauvages, bien que non encore avérée en France en 2014 (Cavalerie et al. 2014; Dufour, Bénét 2015), limiterait fortement la possibilité d'assainir les troupeaux environnants. Cependant, la transmission retour de l'infection de la faune sauvage vers les élevages sains, bien que fortement suspectée lorsqu'on ne parvient pas à expliquer les origines de certains foyers, n'a jamais été avérée avec certitude en France (Payne 2014). La prévention de cette transmission, avérée dans d'autres pays où la faune sauvage est réservoir de tuberculose (Gortázar et al. 2012; Gormley, Corner 2013), est la justification principale de la surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage, associée au risque sanitaire qu'engendre la manipulation par l'Homme de gibier infecté (Vayr et al. 2018).

I.C - Programmes de surveillance en France

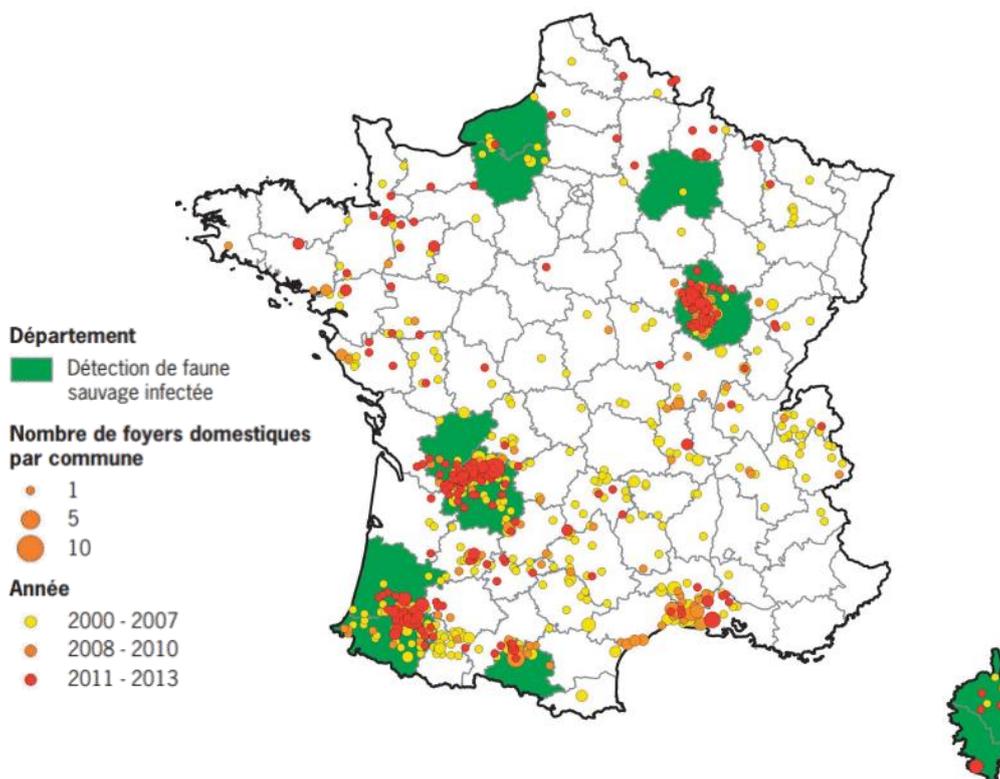


Figure 1 - Distribution par commune des foyers de tuberculose bovine en France, de 2000 à 2013, et des départements où l'infection a été détectée dans la faune sauvage libre (Source : DGAL).

I.C.1 - Surveillance des élevages

L'objectif principal de la surveillance de la tuberculose bovine est de détecter le plus précocement possible les animaux infectés afin dans un premier temps d'éradiquer la maladie, et dans un second temps de garantir le statut officiellement indemne des élevages et du pays (Cavalerie et al. 2014). Pour ce faire, la surveillance porte sur les bovins principalement, les autres ruminants domestiques, mais aussi sur la faune sauvage sensible.

La surveillance des troupeaux s'effectue à différents niveaux de la filière d'élevage et selon différentes modalités :

- En élevage bovin, dépistage prophylactique à un rythme adapté à la situation sanitaire du département ou de la commune, par intra-dermo réaction à la tuberculine (IDT) ou par détection de la production d'interféron gamma (IFN- γ). En cas de mouvements considérés à risque par leur durée entre deux élevages ou par le statut de l'élevage d'origine, un dépistage peut être programmé sur les individus concernés.
- A l'abattoir, inspection systématique de tous les ruminants destinés à la consommation humaine, ciblant les organes privilégiés par l'infection à la recherche de lésions typiques.

Toute suspicion établie à la suite d'un test non négatif ou d'une découverte de lésion à l'abattoir fait l'objet de déclaration afin de mettre en place les mesures de police sanitaire adaptées (qui ne seront pas détaillées ici), permettant de confirmer le cas puis d'assainir le foyer (Cavalerie et al. 2014).

I.C.2 - Surveillance de la faune sauvage

I.C.2.a - Origine et organisation du dispositif Sylvatub

Dans la faune sauvage, suite à la première découverte fortuite de tuberculose bovine chez des cerfs en forêt de Brotonne, la surveillance événementielle et programmée a été d'abord concentrée sur quelques zones infectées situées autour de foyers bovins. Depuis fin 2011, le dispositif national d'épidémiosurveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage Sylvatub a été mis en place par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) qui en a confié l'animation et le pilotage technique à la plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (ESA), en coopération avec les partenaires techniques et scientifiques concernés : Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPP), Fédération Nationale des Chasseurs (FNC), Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), Association des Directeurs et cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses (Adilva), et Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (Anses). Le réseau Sylvatub permet de centraliser, d'organiser et d'harmoniser les méthodes de surveillance (Rivière et al. 2013 ; 2017; *Note de service DGAL/SDSPA/2015-556 du 26 juin 2015*). L'organisation générale du dispositif est présentée en Figure 2. Le comité de pilotage national a pour rôle de définir les changements du dispositif (protocole ou niveaux de risque départementaux par exemple). Il se réunit deux fois par an, présidé par la DGAL et réunissant les représentants des différents organismes concernés par ces décisions : la DGALN (ministère de l'environnement), l'Anses, l'ONCFS, la FNC, l'association des lieutenants de louveterie de France, l'association des piégeurs agréés de France, la fédération nationale des Groupements de Défense Sanitaire (GDS France), la Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires (SNGTV), la Coopération Agricole (Coop de France) et l'Adilva (Figure 2). La cellule d'animation technique apporte un appui scientifique et technique à l'organisation et à l'évaluation du

dispositif, et propose des adaptations selon les situations sanitaires nationales à locales. Elle se réunit une dizaine de fois par an, coordonnée par l'animateur national Sylvatub (appartenant à l'ESA, l'Anses ou l'ONCFS) et réunissant des représentants de la DGAL, l'Anses, l'ONCFS, la FNC, GDS France et l'Adilva (Figure 2).

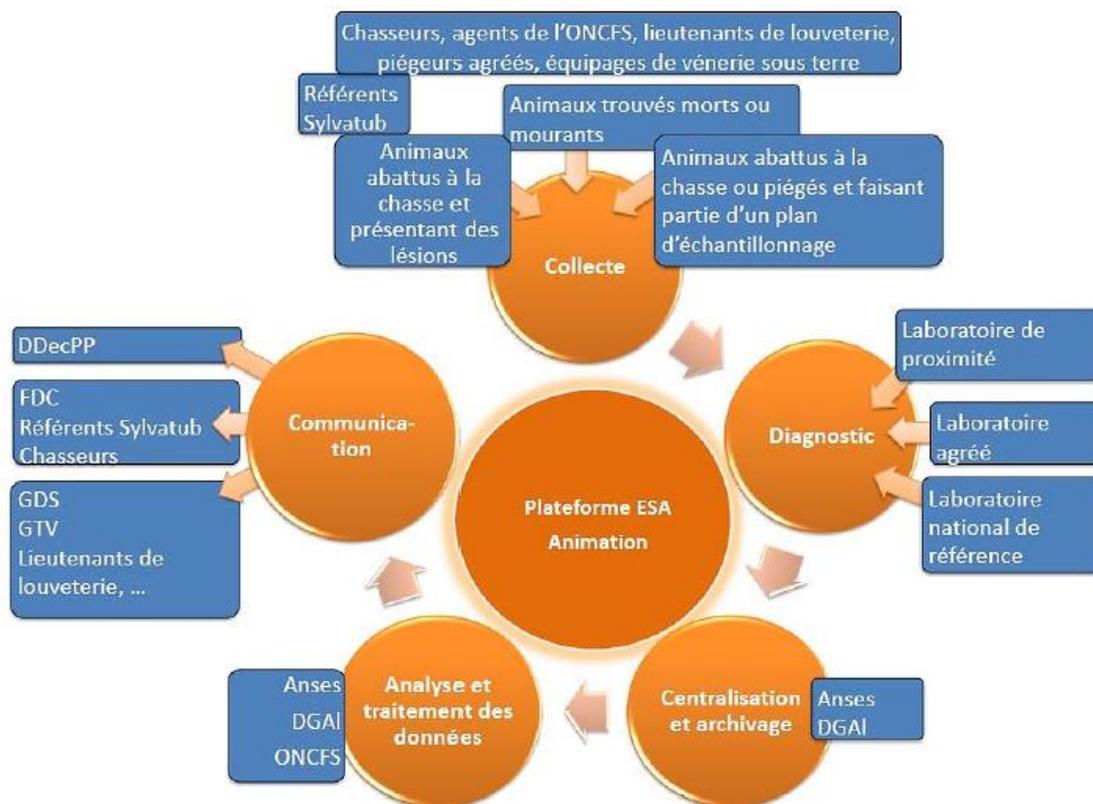


Figure 2 - Organigramme de Sylvatub. (Source : Rivière, 2016)

I.C.2.b - Méthodologie de la collecte des prélèvements

La surveillance repose sur plusieurs composantes, dont l'application est faite selon une analyse de risque départementale ou locale (Rivière 2016; *Note de service DGAL/SDSPA/2015-556 du 26 juin 2015*) (Tableau 1 et Figure 3). Le risque est défini par trois niveaux, de 1 à 3 par risque croissant, basés principalement sur la proximité de foyers bovins ou sauvages identifiés. Ces niveaux de risque sont réévalués deux fois par an par le comité de pilotage afin d'adapter le dispositif de surveillance à l'évolution de la situation épidémiologique.

Pour les zones en niveau de risque 1 (risque de base), seule la composante événementielle est appliquée, à savoir la surveillance et le report par les chasseurs de lésions évocatrices de tuberculose pour les cervidés et sangliers chassés, ainsi que pour les cervidés, sangliers et blaireaux prélevés morts ou mourants dans le cadre du réseau SAGIR, qui permet depuis 1986 de collecter et analyser les causes de mortalités de la faune sauvage à l'échelle nationale (Lamarque et al. 2000). Ce report de suspicion se fait auprès du référent Sylvatub départemental, qui organise ensuite le transport du prélèvement (carcasse ou organe à lésion) vers le

Laboratoire Départemental d'Analyse (LDA). Dans les zones de risque 2, s'ajoute à cette première composante un renforcement de la surveillance des animaux morts ou mourants par intensification des collectes et analyses bactériologiques systématiques, ainsi qu'une surveillance programmée par piégeage et analyse bactériologique des blaireaux autour des foyers bovins. Ce piégeage prévoit une collecte d'une quinzaine d'individus dans un rayon de 1 à 2 km autour du foyer, si possible adultes, et ce sur toute une saison soit de septembre (dès mai sous couvert d'arrêté préfectoral) à janvier. Enfin dans les zones à risque 3 (risque maximal), en plus des composantes citées précédemment, une surveillance bactériologique programmée est réalisée parmi les cervidés et sangliers chassés, ainsi que sur des blaireaux piégés en zone à risque (Tableau 1)

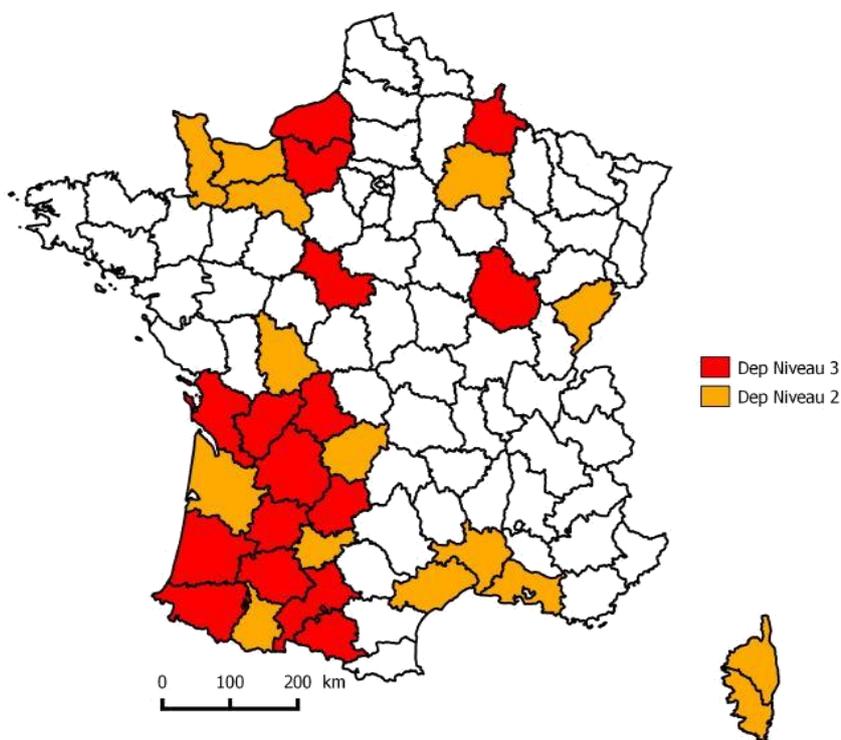


Figure 3 - Carte des niveaux de surveillance départementaux, mise à jour de mai 2017 (Source DGAL)

Tableau 1 - Modalités de surveillance appliquées selon le niveau de risque départemental (Source : DGAL)

Type de surveillance	Modalités de surveillance	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Événementielle	Surveillance de lésions évocatrices de tuberculose chez les cervidés et sangliers lors de l'examen de carcasse dans le cadre d'une pratique de chasse habituelle	✓	✓	✓
	Surveillance de lésions évocatrices de tuberculose chez les sangliers, cervidés et blaireaux prélevés dans le cadre du réseau SAGIR (animaux morts ou mourants) dans son fonctionnement normal	✓	✓	✓
Événementielle renforcée	Surveillance des cerfs, sangliers et blaireaux dans le cadre d'un renforcement du réseau SAGIR		✓	✓
	Surveillance de la tuberculose sur les cadavres de blaireaux signalés sur les routes		✓	✓
Programmée	Surveillance de la tuberculose chez les blaireaux piégés en zone à risque		✓	✓
	Surveillance de la tuberculose sur les cerfs et les sangliers tués à la chasse			✓

I.C.2.c - Analyses diagnostiques au laboratoire

Tous les prélèvements ou cadavres récoltés sur le terrain sont envoyés au LDA. Les cadavres et organes y sont examinés à la recherche de lésions, puis les prélèvements standards sont réalisés, à savoir pour le protocole en vigueur en 2018 (*Note de service DGAL/SDSPA/2015-556 du 26 juin 2015*) :

- Pour les blaireaux, un mélange d'échantillons des nœuds lymphatiques rétropharyngiens, pulmonaires (trachéobronchiques et médiastinaux), et hépatiques, ainsi que les éventuelles lésions et des échantillons de leurs nœuds lymphatiques drainants.
- Pour les sangliers, un mélange d'échantillons des nœuds lymphatiques sous-mandibulaires, ainsi que les éventuelles lésions et des échantillons de leurs nœuds lymphatiques drainants.
- Pour les cervidés, un mélange d'échantillons de nœuds lymphatiques rétropharyngiens et pulmonaires (trachéobronchiques et médiastinaux), ainsi que les éventuelles lésions et des échantillons de leurs nœuds lymphatiques drainants.

Le LDA effectue un premier dépistage, initialement par culture bactérienne et depuis 2015 par PCR suivie d'une culture bactérienne en cas de résultat PCR non négatif. En cas de résultat positif par culture et/ou PCR, le LDA envoie l'extrait d'ADN et/ou la souche isolée au Laboratoire National de Référence (LNR) à l'Anses de Maisons-Alfort, pour confirmation et identification moléculaire. Un animal ne sera donc confirmé infecté par *M. bovis* qu'après analyse par le LNR (Tableau 2).

La base de données, ainsi produite et enrichie par les différents acteurs à chaque étape de la collecte à la confirmation des cas, est finalement conservée par l'Anses et l'ONCFS qui sont chargés de l'animation du réseau par le biais de l'animateur national Sylvatub, ainsi que de l'analyse des données (Figure 2 et Annexe 8 Figure 22).

I.C.2.d - Limites de la surveillance de la faune sauvage

Au vu de l'organisation complexe du dispositif Sylvatub présentée ci-dessus, et de par les différentes situations épidémiologiques rencontrées dans chaque département, les différents protocoles de surveillance par départements, par saisons et par espèces, le nombre d'acteurs dans la chaîne de collecte des données, et le caractère non professionnel des chasseurs et autres usagers de la nature source primaire d'information, il est aisément compréhensible que la base de données résultante est très complexe et que la performance du système de surveillance global est difficile à évaluer (Rivière 2016). D'autant plus que cette organisation a évolué au cours du temps, suivant les évolutions de situation épidémiologique des différentes régions ainsi que les évolutions de connaissances scientifiques concernant le dépistage de la tuberculose bovine. Ainsi, les protocoles de dépistage (organes prélevés pour analyse, techniques de laboratoire) ont été à plusieurs reprises modifiés afin d'optimiser leur rapport coût/efficacité.

La seconde difficulté majeure, inhérente à la faune sauvage libre, concerne l'établissement d'un échantillonnage représentatif et d'effectif suffisant pour estimer un taux de prévalence avec une précision donnée ou une probabilité de détection définie. En effet, la population exacte est inconnue en termes d'effectif et de structure (âges ou sexes), et ne peut être qu'estimée à partir des connaissances sur l'écologie de l'espèce, des observations ou des sous-populations chassées. De plus, les contraintes liées aux méthodes de collecte ou de prélèvement des animaux amènent forcément à trouver un compromis entre une taille idéale pour l'épidémiologiste et une taille réalisable par les acteurs de terrain (Fromont, Rossi 2000). Ces méthodes de collecte amènent aussi un biais de sélection, quel que soit le type de surveillance (événementielle ou programmée). En effet, en surveillance programmée les animaux sont collectés à la chasse ou au piégeage, ce qui entraîne inévitablement une sélection non aléatoire des individus : la chasse a lieu de jour, seulement d'octobre à mars, et les consignes de chasse orientent la sélection sur certaines catégories de population et sur des individus en apparente bonne santé ; quant au piégeage, il amène bien souvent à négliger certaines zones que les piégeurs connaissent moins. En surveillance événementielle (SAGIR), les animaux collectés préférentiellement sont ceux de taille moyenne, qui sont facilement visibles dans le paysage, mais aussi de taille permettant leur transport dans un véhicule jusqu'au laboratoire d'analyse. L'assiduité des acteurs de terrain locaux peut aussi améliorer les effectifs collectés indépendamment d'une épidémie quelconque (Rivière et al. 2013). Ces biais de sélection limitent *in fine* l'extrapolation et l'interprétation des résultats. Intervient ensuite un second biais de mesure, lié à la sensibilité et à la spécificité du protocole de dépistage de la tuberculose utilisé. En effet, il faut tenir compte des moindres performances des tests de dépistage de la tuberculose dans la faune sauvage (prélèvements contaminés, conditions de conservation non optimales, espèces différentes du modèle, traitement des organes en pool...) qui selon les experts verraient ainsi leur sensibilité amoindrie de 35% pour la culture et 15% pour la PCR, soit des sensibilités respectives d'environ 50,8% et 74,45% (Rivière et al. 2015). Il faut donc identifier ces biais au préalable, essayer de les éviter tant que possible, et en tenir compte pour corriger les résultats de surveillance obtenus (Fromont, Rossi 2000). Or bien souvent, les études épidémiologiques de la faune sauvage ne prennent pas ces biais en compte car ils peuvent être difficiles à quantifier, et les auteurs interprètent alors les résultats bruts de proportion d'infection obtenue en termes de prévalence dans la population globale (*Rapports d'enquête annuels 2002-2017*; Coleman et al. 1994; McInerney, Small, Caley 1995; Vicente et al. 2006; Payne et al. 2013; Hars et al. 2016).

1.D - Historique de surveillance et de gestion dans le massif de Brotonne-Mauny

Depuis la découverte en 2001 de cerfs infectés par *M. bovis*, des programmes de surveillance ont été mis en place sur le massif de Brotonne-Mauny. Deux premiers programmes sur les saisons de chasse 2001-2002 et 2003-2004 ont permis d'appréhender l'étendue de l'infection dans la faune sauvage du massif, s'élevant à 14% chez les cerfs et 28% chez les sangliers. Un travail d'expertise et de modélisation a permis

d'établir que la population de cerfs était alors réservoir secondaire de la tuberculose et permettait le maintien de l'infection chez les sangliers. Les foyers bovins avoisinant le massif forestier ont été nombreux juste avant la découverte de la tuberculose dans la faune sauvage : un au nord-ouest découvert en mars 2000, trois découverts au sud-ouest en 1999 et 2000. Ces foyers et les précédents ont certainement participé à contaminer initialement la population d'ongulés sauvages de Brotonne et à former un foyer secondaire chez les cerfs. Après ces conclusions, les premières mesures de contrôle ont été appliquées en conséquence. Ainsi, à partir de la fin de l'année 2002, il a été décidé de réduire les populations de cerfs et de sangliers, d'arrêter tout agrainage à poste fixe, de récolter et détruire les viscères de gibier, et de renforcer les séparations entre forêt et pâtures de bovins. Lors de la saison de chasse de 2005-2006, un nouveau programme de surveillance a été lancé afin de suivre l'évolution du niveau d'infection et ainsi mesurer l'effet des mesures de gestion et de prévention appliquées. Il s'est avéré que la situation s'était aggravée en 2006 dans la mesure où la prévalence apparente a atteint 23% chez les cerfs et 37% chez les sangliers. Un renforcement des mesures de contrôle a donc été appliqué, consistant en particulier en l'éradication de la population de cerfs (permise par le caractère isolé du massif forestier) prévue à partir de l'année 2006 et presque accomplie en 2010 où le tableau de chasse comportait moins d'une dizaine d'individus contre 150 à 160 au début des années 2000 (Zanella 2007; *Rapports d'enquête annuels* 2002-2017). Toutes les saisons de chasse suivantes, la surveillance a été poursuivie afin de suivre l'évolution de l'infection, ainsi que de mieux comprendre l'épidémiologie de la tuberculose bovine dans cette zone, permettant d'adapter les mesures de gestion et les protocoles de surveillance suivants. Ces programmes sont réalisés sous la direction de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). La Direction Départementale de la Protection des Populations de Seine-Maritime (DDPP76) en est le maître d'œuvre. L'Unité Sanitaire de la Faune (USF) de l'ONCFS en assure l'élaboration des protocoles, l'analyse des résultats et la coordination générale. Depuis 2012, l'harmonisation des protocoles établis à Brotonne avec ceux de Sylvatub est faite progressivement, afin de suivre les dispositions relatives au niveau 3 de surveillance pour la zone.

La surveillance programmée en forêt de Brotonne de 2005 à 2017 a principalement concerné les sangliers du fait de sa large population chassée et de son rôle de sentinelle pour la tuberculose qui permet de détecter finement la présence de la maladie dans le système d'hôtes. Environ 200 individus ont ainsi été dépistés pour la tuberculose bovine chaque saison de chasse, représentant selon les prélèvements annuels 32% à 55% des individus chassés sur le massif. Ces proportions d'échantillonnage sont exceptionnelles pour une étude épidémiologique en faune sauvage, et le suivi annuel sur plus de 10 ans de la même population permet l'accumulation de données extrêmement riches. La surveillance a été plus légère sur les autres espèces, les cerfs étant quasiment éradiqués depuis 2009 (moins de dix individus resteraient en 2018, devenus impossibles à éliminer (*Rapports d'enquête annuels* 2002-2017) et les trois autres espèces (chevreuils, renards, blaireaux) représentant de faibles effectifs jamais trouvés infectés, sauf en 2005 un individu parmi 50 pour chacune (Annexe 1 Tableau 11 et Figure 12).

L'effet de l'élimination des cerfs a été radical sur la prévalence de la tuberculose chez les sangliers, avec une proportion apparente d'infectés en-dessous de 3% à partir de 2009 (Annexe 1 Tableau 11 et Figure 12). Cependant l'infection continue à être détectée à bas bruit dans cette population malgré les mesures de contrôle mises en place et les moindres sources de contamination environnementale. En effet, les foyers bovins avoisinant le massif forestier ont été peu nombreux après la découverte du foyer sauvage, avec en 2003 un élevage au nord-ouest de la forêt domaniale et un au sud, en 2006 un foyer au nord-est, puis le dernier en 2013 dans la même zone (Figure 4). Il est à noter qu'à sa découverte ce dernier foyer bovin était fortement infecté (près de 30% du troupeau à l'analyse microbiologique post-mortem), ce qui suggère une présence de tuberculose depuis plusieurs années dans l'élevage et une probable contamination des pâtures situées en bordure de massif. Conformément au protocole du dispositif Sylvatub, la découverte de ce foyer a engendré la surveillance des terriers de blaireaux environnants par piégeage, mais aucun blaireau ainsi collecté autour de l'élevage n'a été détecté infecté. En 2016, au cours d'enquêtes de terrain cherchant à investiguer les facteurs de risque environnementaux, il a été observé que des chèvres férales occupaient depuis une durée indéterminée la bordure sud-est de la forêt domaniale de Brotonne (Figure 4). Or cette espèce est réputée pour être sensible à la tuberculose bovine, et pour excréter fortement la bactérie dans l'environnement à partir de lésions étendues et ouvertes (Domingo, Vidal, Marco 2014). L'élimination de cette population a donc été rapidement entreprise afin d'éliminer et investiguer une potentielle source de contamination, mais heureusement aucun individu sur les 8 analysés n'a été confirmé infecté par *M. bovis*.

I.E - Problématique et hypothèses abordées

Malgré la quasi élimination des foyers de tuberculose bovine dans et autour du massif de Brotonne (cerfs et bovins), l'infection semble s'être maintenue entre 1% et 3% de prévalence apparente chez les sangliers depuis 2009 (Annexe 1 Tableau 11 et Figure 12). Les causes de la persistance de la tuberculose chez cette espèce sont donc à clarifier, en particulier pour les lots de chasse au sud du massif qui sembleraient plus touchés ces dernières années, mais aussi ceux à proximité de foyers bovins identifiés, source potentielle importante de contamination pour l'environnement, dont un foyer au nord-est du massif qui a été détecté et éliminé en 2013 postérieurement à l'élimination des cerfs (considérés comme le réservoir historique principal). L'identification de facteurs de risque permettra ainsi de cibler les mesures à mettre en œuvre pour contrôler ce phénomène. Un bilan analytique de l'évolution spatio-temporelle sur les 12 dernières années de surveillance de l'infection sera réalisé pour répondre à ces questions.

Si les premières années de suivi (2001 et 2003) ont été pionnières en matière de protocole et d'établissement de la zone infectée, le protocole d'échantillonnage a été peu modifié depuis 2005 quant au recrutement des sangliers chassés sur l'ensemble du massif (surveillance active). Le protocole de diagnostic en laboratoire a quant à lui évolué à plusieurs reprises (Tableau 9). Une évaluation des performances des différentes composantes du dispositif de surveillance, dans un contexte épidémiologique changeant, sera réalisée afin d'étudier de possibles modifications du protocole.

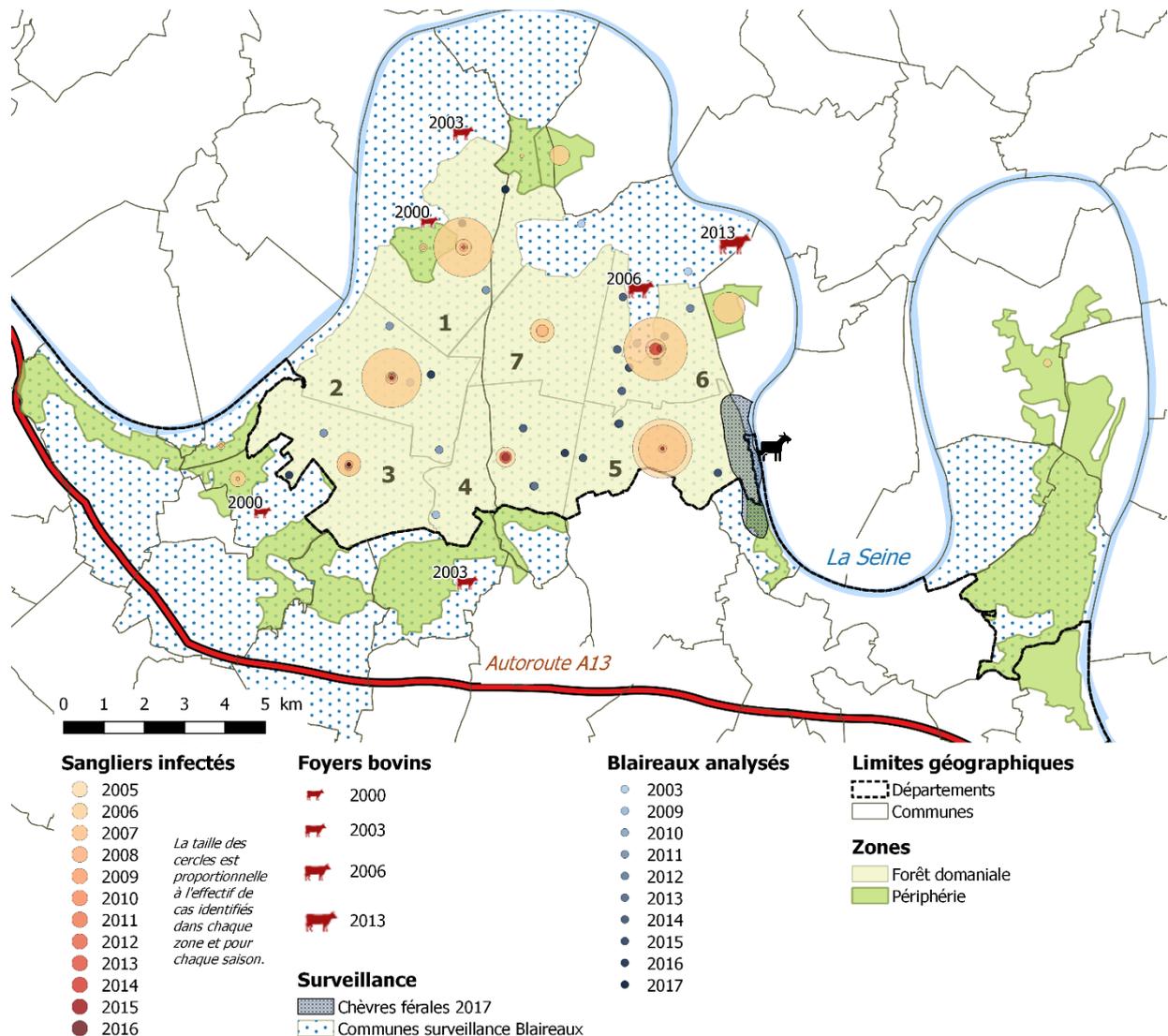


Figure 4 - Carte de l'historique d'identification de cas et de surveillance.

Les cerfs infectés, non représentés ici pour ne pas surcharger la figure, ont été principalement chassés dans l'ensemble de la forêt domaniale (beige) jusqu'en 2009-2010.

Les dates des foyers bovins correspondent à l'année d'abattage total du troupeau. Les dates des infectés sangliers et analysés blaireaux correspondent à l'année/saison de collecte. Les communes grisées correspondent à des analyses de blaireaux piégés ou collectés depuis 2003 sur ces territoires sans plus de précision de localisation. Les localisations des infectés blaireau, renard et chevreuil en 2005-2006 (Annexe 1) n'ont pas été retrouvées dans la documentation disponible.

Partie II - Evolution de la situation de la tuberculose bovine chez le sanglier en forêt de Brotonne (2001-2017)

La situation épidémiologique de la tuberculose en forêt de Brotonne a évolué au cours des 15 années qui ont fait suite à la découverte du premier cas dans la faune sauvage locale en 2001 et à la mise en place de mesures de contrôle. Un bilan de l'évolution temporelle et spatiale de l'infection par *M. bovis* au sein de la zone a été réalisé dans le cadre de cette étude, en particulier dans la population des sangliers qui fait l'objet d'une surveillance continue et rigoureuse depuis les premières années. Certains facteurs de risque pour l'infection des sangliers ont été explorés dans le cadre de cette étude, afin de mieux comprendre l'épidémiologie de la tuberculose bovine dans cette espèce au cours de la période 2005-2016, et d'éventuellement proposer des pistes de gestion et d'investigations futures. Les cerfs, chevreuils, blaireaux et renards ont aussi été examinés dans le cadre de la surveillance programmée sur le massif, mais de façon plus ponctuelle dans le temps. Les effectifs pour ces trois dernières espèces étant bien plus faibles et l'infection n'y ayant pas été détectée (à l'exception d'un individu de chaque espèce en 2005), elles n'ont pas été intégrées dans l'analyse principale de cette étude.

II.A - Matériel et méthodes

II.A.1 - Territoire d'étude, acteurs et protocoles d'échantillonnage

Le champ de cette étude s'est concentré sur le massif de Brotonne, ainsi que celui de Mauny, à cheval sur la frontière entre les départements de Seine-Maritime et de l'Eure, en Normandie. Ces deux massifs forestiers sont reliés entre eux par une bande de terre, et des échanges d'ongulés sauvages y ont été constatés (*Rapport d'enquête* 2002). Les massifs de Brotonne et Mauny peuvent cependant être considérés comme isolés des forêts voisines, car ils sont bordés au sud par une autoroute, et au nord par la Seine (Figure 5). Les populations d'ongulés sauvages qui y vivent sont donc quasiment indépendantes car leurs mouvements entre Brotonne-Mauny et l'extérieur sont négligeables.

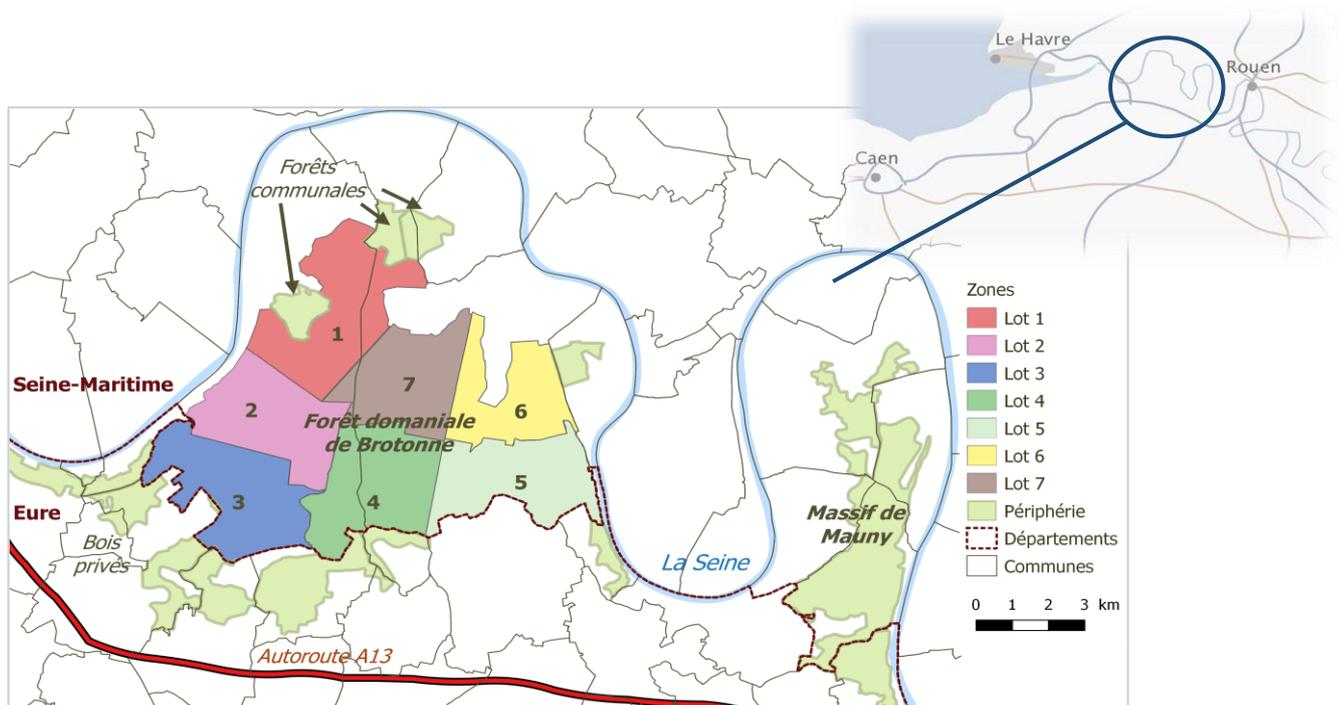


Figure 5 - Situation et zonage du secteur d'étude.

Les massifs forestiers de Brotonne et Mauny sont historiquement exploités pour la chasse récréative aux cervidés et au sanglier, par battues ou chasse à courre. Le massif de Brotonne (8200 ha au total) comprend différents types de secteurs de chasse : la forêt domaniale (6718 ha) gérée par l'Office National des Forêts (ONF) et divisée en 7 lots dont la chasse est gérée par des adjudicataires, les forêts communales de Vatteville la Rue, Saint Nicolas de Bliquetuit et Notre Dame de Bliquetuit situées à la frontière nord du massif et louées à des adjudicataires, et les bois privés situés aux pourtours sud et est du massif. Le massif de Mauny (1000 ha) est situé dans le méandre voisin de la Seine et se compose de bois privés (Figure 5). Le paysage environnant est très agricole, avec des élevages de bovins en pâture, mais également de petits ruminants.

Les données brutes des programmes annuels de surveillance de la tuberculose sur les sangliers constituent le cœur de l'étude. Ces programmes ont été établis de façon rigoureuse à partir de la saison de chasse 2005-2006, et sont reproduits et adaptés chaque année depuis lors (Zanella 2007; Maeder 2007; *Rapports d'enquête annuels 2002-2017*). Pour chaque saison de chasse entre 2005 et 2017, la base de données ainsi récoltée comprenait environ 200 individus (minimum 151 et maximum 310). Les sangliers devaient être sélectionnés aléatoirement parmi les animaux prélevés à la chasse en battue, organisée d'octobre à mars, jusqu'à atteindre l'effectif fixé (représentant environ la moitié du tableau de chasse annuel). La saison de chasse 2005-2006 a fait exception à ce mode de sélection, puisque cette année-là les chasseurs amenaient volontairement les sangliers éviscérés à l'inspection. Ce mode d'échantillonnage a pu amener un biais surestimant la prévalence comme l'explique le rapport d'enquête (Zanella 2007). Chaque sanglier sélectionné a été inspecté sur le lieu de la chasse par un vétérinaire vacataire, qui a porté une attention particulière aux organes cibles de la tuberculose et les a incisés à la recherche de lésions macroscopiques : les nœuds

lymphatiques céphaliques (sous-mandibulaires, rétro-pharyngiens et parotidiens, voir anatomie en Annexe 7 Figure 20), les nœuds lymphatiques pulmonaires (trachéo-bronchiques et médiastinaux), les poumons, le foie, les nœuds lymphatiques digestifs (sus-hépatiques et mésentériques). Si des lésions suspectes ont été observées sur d'autres organes, le vétérinaire les a prélevées ainsi que le nœud lymphatique drainant. Les nœuds lymphatiques céphaliques de l'un des deux côtés ont également été systématiquement prélevés, ainsi que les nœuds lymphatiques pulmonaires jusqu'à 2012, et les nœuds lymphatiques mésentériques jusqu'à 2010 (Tableau 9). Durant les saisons de chasse 2016-2017 et 2017-2018, le sang des individus sélectionnés a également été prélevé sur tubes secs, et leur âge a été estimé plus précisément à partir de la denture. Les organes prélevés ont été collectés dans des contenants en plastique identifiés individuellement, accompagnés d'une fiche de commémoratifs de l'individu renseignant le lieu et la date d'abattage, l'identité du préleveur, le sexe, le poids de la carcasse vidée, l'âge estimé, puis la description des organes prélevés et des lésions éventuellement observées.

II.A.2 - Protocole du diagnostic de laboratoire

Les prélèvements ainsi collectés ont été conservés au froid positif et transmis dans les 24h à 48h suivant la chasse au laboratoire agro-vétérinaire départemental de Seine Maritime (LAVD 76) pour analyses microbiologiques. A leur réception, le laboratoire départemental a examiné les organes à la recherche de lésions microscopiques (inférieures à 2mm). Il a préparé les échantillons puis effectué les premières analyses de dépistage. Une partie des échantillons préparés a été envoyée au LAVD de Haute Savoie entre 2006 et 2010 afin de partager le temps de travail lourd à cette époque (Tableau 9). Jusqu'à 2012, tous les prélèvements faisaient l'objet d'un dépistage individuel puis en pool par culture sélective des mycobactéries, selon une méthode standardisée établie en accord avec le LNR. A partir de la saison 2013, les organes présentant des lésions à l'inspection ou au laboratoire ont été traités différemment des organes sains : ils ont fait l'objet d'une PCR ciblant la séquence IS6110 spécifique du complexe tuberculosis, en parallèle de la culture. Ce protocole avait pour objectif d'obtenir un résultat rapide en cas de confirmation de l'infection (2 jours pour la PCR et jusqu'à 2 mois pour la culture), et d'harmoniser les méthodes avec celles définies par le dispositif Sylvatub. A partir de 2015, la PCR devient la méthode de référence du dépistage et tous les prélèvements y ont été soumis, associée à une culture pour les organes à lésions ou dont la PCR était non négative. En cas de résultat non négatif en culture ou en PCR, les échantillons ainsi que les souches cultivées ont été envoyés au LNR à l'Anses de Maisons-Alfort, qui a identifié la mycobactérie par des PCR discriminantes en série. Lors des saisons de chasse 2016 et 2017 (non présentée ici), les échantillons de sang ont été analysés en parallèle au LAVD par un kit ELISA ciblant le complexe tuberculosis dans le cadre d'une étude préalable à son utilisation générale chez le sanglier (Richomme et al. 2014).

II.A.3 - Préparation des données

II.A.3.a - Consolidation de la base de données

Tous les résultats d'analyses et d'inspection associés aux commémoratifs des individus ont été transmis à la DDPP76, maître d'œuvre du programme de surveillance, ainsi qu'à l'USF qui a élaboré le protocole et réalisé la coordination générale du programme. A partir de 2012, les données de la forêt de Brotonne ont été regroupées avec la base de données du dispositif national Sylvatub.

La première partie du travail a consisté en un nettoyage et une consolidation de la base de données existante pour le programme de surveillance de la tuberculose chez les sangliers. Ces données récoltées pour chaque saison de chasse à partir de 2005 représentaient 151 à 310 individus par an, dont des prélèvements d'organes ont fait l'objet d'analyses pour rechercher *M. bovis*. La consolidation des données a consisté à rassembler pour chaque sanglier dans un tableau synthétique grâce aux logiciels Access et Excel les différentes informations récoltées au cours du protocole de surveillance, à savoir :

- La saison de chasse, conventionnellement définie par l'année civile du début de saison ;
- Le LAVD auquel les prélèvements ont été envoyés pour le dépistage par culture et/ou PCR de mycobactéries ;
- Les numéros d'identification de l'animal pour le programme de surveillance de Brotonne et pour le LAVD ;
- La liste des organes prélevés ayant fait l'objet d'analyses au laboratoire départemental ;
- Les observations de lésions macroscopiques ou microscopiques sur les organes prélevés : présence ou absence, description littérale puis score des lésions à partir de 2008 (voir description en Annexe 7 Figure 21) ;
- Le nombre d'organes prélevés, et parmi ceux-ci le nombre d'organes à lésions, et le nombre d'organes à lésions suspectes actives (caséuses à purulentes, correspondant aux scores 3 à 5, voir Annexe 7 Figure 21) ;
- Les résultats d'analyses au LAVD (culture, PCR, sérologie), et l'identification moléculaire du LNR (espèce de mycobactérie, puis spoligotype si *M. bovis* est identifié) ;
- La conclusion des résultats d'analyse pour le statut infectieux de l'individu : infecté à *M. bovis*, infecté possible, non infecté (description de l'arbre de décision en Tableau 2) ;
- Les commémoratifs de l'individu : date de chasse, lieu de chasse (ensuite décomposé en commune, lot, parcelle et zone), sexe, poids de la carcasse vidée, classe d'âge estimée (seulement en 2016 et 2017). Les zones ont été définies par le lot de chasse, et les zones hors forêt domaniale ont été regroupées selon le lot de chasse qu'elles bordent (P1 pour le lot 1 par exemple) ou par leur appartenance au massif de Mauny.

Les tableaux de synthèse mis à disposition par la DDPP76 et l'USF étant parfois incomplets ou non actualisés en fin de saison, il a été nécessaire de compléter ces données par celles du LNR, de Sylvatub et de l'ONF. Pour la saison 2017, les analyses n'étant pas terminées au LAVD lors de la rédaction de ce rapport, seuls les commémoratifs des individus et les résultats de sérologie ont été exploités. Finalement, un tableau de synthèse a été constitué pour les saisons 2005 à 2017 avec l'ensemble des sangliers dont les organes ont été prélevés dans le cadre de la surveillance programmée sur le massif de Brotonne-Mauny, dont un extrait de quelques enregistrements a été représenté en Annexe 2 Tableau 12. Au total, 2655 individus ont été représentés, dont 210 sans résultats d'analyse, qui ont été conservés seulement pour leurs commémoratifs dans les analyses de structure de l'échantillon.

La conclusion du statut des individus vis-à-vis de *M. bovis* a été établie suivant les recommandations du LNR, et a suivi celle du fichier Sylvatub à partir de 2012 (Tableau 2). Ainsi, un résultat de culture et PCR négatif au LAVD a amené à une conclusion négative. En cas de résultat douteux ou positif au LAVD, la conclusion du LNR a primé sur celle du LAVD. Pour 93 individus, aucun résultat du LNR n'était présent à la suite d'un résultat de culture douteux au LAVD, ils ont donc été classés non infectés par *M. bovis* car également non comptabilisés dans les positifs par les rapports d'enquête (*Rapports d'enquête annuels 2002-2017*).

Tableau 2 - Arbre de décision pour le statut infectieux vis-à-vis de *M. bovis*

MB : mycobactéries ; MTC : mycobactéries du complexe tuberculosis

Culture MB	PCR MTC	Identification	Conclusion infecté	Effectif
0 = négatif 1 = positif 2 = ininterprétable (contaminé)	0 = négatif 1 = positif 2 = douteux	NA = non typé N = négatif MB	0 = non infecté 1 = infecté <i>M. bovis</i> 2 = incertain	
0	0	NA	0	18
		N	0	1
	1	Complexe tuberculosis	2	1
		NA	0	4
	NA	NA	0	1077
		N	0	17
1	0	<i>M. bovis</i>	1	6
		<i>M. avium</i>	0	8
		<i>M. terrae</i>	0	3
		<i>M. atypique</i>	0	7
	1	<i>M. bovis</i>	1	5
	2	<i>M. bovis</i>	1	4
	NA	<i>M. bovis</i>	1	229
		<i>M. avium</i>	0	144
		<i>M. terrae</i>	0	29
		<i>M. atypique</i>	0	368
2	0	NA	0	49
	NA	<i>M. avium</i>	0	1
		N	0	2
		<i>M. atypique</i>	0	9
		NA	0	44
NA	0	NA	0	373
	1	<i>M. microti</i>	0	6
		Complexe tuberculosis	2	1
NA	NA	0	39	
			Total	2445
			Infectés	244
			Incertains	2
			Négatifs	2112

II.A.3.b - Détermination du seuil de poids discriminant les classes d'âge

Afin de pouvoir analyser l'effet de l'âge des animaux sur la probabilité d'infection, il était nécessaire que celui-ci soit estimé de façon précise. Or, pour toutes les saisons de chasse avant 2016, l'âge a été estimé par les chasseurs et le vétérinaire réalisant l'inspection sur la base de l'aspect des animaux et de seuils de poids empiriques fondés sur les expériences d'autres massifs forestiers. Ces seuils définis dans les protocoles successifs (*Rapports d'enquête annuels* 2002-2017) ont de plus évolué au cours du temps, et ne sont donc pas jugés fiables. En 2016 et 2017, l'âge a été estimé avec précision par le vétérinaire en charge de l'inspection sur la base de la denture des animaux (protocole et formation délivrés par l'ONCFS), permettant de définir 3 classes d'âge : jeunes (moins d'un an), sub-adultes (1 à 2 ans) et adultes (plus de 2 ans).

Les classes d'âges ainsi estimées pour ces deux saisons ont été comparées au poids des individus, afin de définir des seuils de poids discriminant chaque classe d'âge. La distribution statistique des poids pour chaque classe d'âge a donné dans un premier temps une idée des discriminations d'âge possibles à partir du poids. Dans un second temps, une démarche itérative a été appliquée, testant le pourcentage de classifications correctes parmi les individus des deux saisons pour chaque poids seuil. Le poids seuil sélectionné discriminant deux classes d'âges a été celui qui a conduit au pourcentage de classifications correctes le plus élevé. Une fois ce seuil établi, il a été possible de recomposer les classes d'âge plus précises des saisons précédentes à partir des poids enregistrés, en se basant sur l'hypothèse que la richesse du milieu n'a pas suffisamment évolué pour induire une forte variation de poids des différentes classes d'âge (avis d'experts).

Dans l'échantillon, il est apparu une nette distinction de poids entre jeunes et adultes/sub-adultes (Annexe 3 Figures 13 et 14), mais la différence de poids entre adultes et sub-adultes était moins marquée, même en distinguant les sexes. La distinction a donc ensuite été uniquement faite entre deux classes d'âge : les jeunes (moins d'un an) et les adultes et sub-adultes (plus d'un an). La méthode itérative a indiqué que le meilleur seuil, celui qui maximisait le pourcentage de classifications correctes, correspondait à un poids de 61 kg (Annexe 3 Figure 15). Ce seuil garantissait 96% de classifications correctes au sein des saisons 2016 et 2017 (Annexe 3 Figure 14). Les classes d'âges considérées dans toute la suite des analyses ont donc été celles recomposées à partir de ce seuil : les « jeunes » (moins d'un an) pesant moins de 61 kg et les « adultes » (plus d'un an) strictement plus de 61 kg.

II.A.4 - Analyses spatio-temporelles de l'infection

II.A.4.a – Préparation des données

L'analyse spatio-temporelle de l'infection par *M. bovis* a reposé sur les données collectées durant les saisons de chasse 2005 à 2016, pour lesquelles des résultats d'analyse complets sur les sangliers échantillonnés étaient disponibles. La variable réponse choisie a été le statut infectieux vis-à-vis de la bactérie (variable binaire), et les variables explicatives ont été les potentiels facteurs de risque de l'infection, à savoir : l'âge (défini à partir du poids fixé dans la section précédente), le sexe, la saison de chasse et la zone de chasse. Les 3 enregistrements dont le statut d'infection est incertain sont éliminés de la base de données : une sérologie sans analyse bactériologique, et deux souches identifiées « complexe tuberculosis ». Sur cet échantillon de données, et pour chaque variable explicative, la distribution des individus infectés a été calculée et comparée à une distribution homogène par des tests de Khi-deux. Si l'une des variables explicatives ne montrait pas d'écart significatif à une distribution homogène entre modalités (p -value > 0.05), alors elle a été considérée comme n'ayant pas d'effet sur la probabilité d'infection des sangliers dans l'échantillon.

La base de données a ensuite été filtrée pour ne conserver que des enregistrements dont les variables explicatives ayant un effet sur la probabilité d'infection étaient complètes. Une exploration graphique (variables catégorielles ordonnées) et par tableaux de contingence (variables catégorielles non ordonnées) de la proportion d'individus infectés par triplets et couples de variables explicatives a été ensuite menée, afin d'identifier de potentiels biais, interactions ou facteurs de confusion entre variables, et de donner des tendances globales de l'évolution spatio-temporelle de l'infection dans l'échantillon. De nouveau, les potentiels biais dus à la structure de l'échantillon ont été recherchés en comparant les effectifs croisés dans chaque modalité de variables catégorielles. Lorsqu'une modalité de variable était peu représentée (effectifs croisés inférieurs à 5) ou mal représentée par rapport aux autres modalités (sur ou sous-représentation de quelques modalités seulement), alors elle a été éliminée ou regroupée avec d'autres modalités épidémiologiquement pertinentes pour la suite des analyses.

II.A.4.b - Analyse de l'évolution spatio-temporelle de l'infection par M. bovis

L'évolution spatio-temporelle de l'infection par *M. bovis* a été explorée à l'aide d'une méthode de régression logistique. Les variables explicatives prises en compte dans le modèle de l'infection par *M. bovis* ont été celles explorées et filtrées précédemment, à savoir la classe d'âge (jeunes ou adultes/sub-adultes), la zone de chasse (lots 1 à 7) et la saison de chasse (2005, 2006, 2008 et « 2009 à 2016 »). L'analyse exploratoire préalable a permis des regroupements de modalités pour les variables catégorielles (saisons de 2009 à 2016). Elle a aussi permis de simplifier l'interaction entre âge et saison de chasse dans le modèle, sous la forme d'une variable binaire prenant comme valeur 1 si l'individu est un adulte en 2005, et 0 sinon. Les interactions de premier et deuxième ordre entre les variables ont également été ajoutées au modèle complet puisque l'analyse

exploratoire a montré qu'elles pourraient avoir un effet sur l'infection. La variable réponse du modèle linéaire généralisé était le statut infectieux vis-à-vis de *M. bovis* (variable binaire encodée en 0/1) (Dohoo, Martin, Stryhn 2009). Pour cet ensemble de variables à confronter dans la sélection du modèle de l'infection, deux hypothèses du risque géographique ont été explorées en regroupant les modalités de la variable zone selon deux possibilités (testées au sein de modèles différents) :

- 1- Risque lié au mode de gestion de la population de sangliers : regroupement des lots 3, 4, 5, 6 gérés par un même adjudicataire faisant de la chasse commerciale potentiellement conservatrice de population, et des lots 1, 2, 7 gérés par des adjudicataires individuels suivant les recommandations de gestion de l'ONF.
- 2- Risque lié à la proximité avec des foyers bovins à la périphérie du massif entre 2003 et 2016 : regroupement des lots 1, 3, 4, 6 au voisinage des foyers bovins de 2003, 2006 et 2013, et des lots 2, 5, 7 plus éloignés de ces foyers.

Pour chacune de ces deux hypothèses, le modèle le plus proche des données a été issu d'une sélection descendante à la main à partir d'un modèle « complet » incluant l'ensemble des variables explicatives à tester ainsi que leurs interactions multiples. Les modèles ont été comparés sur la base de leur ajustement aux données et de leur parcimonie, s'appuyant sur la valeur de leur indice d'Akaike (AIC) (Annexe 5). Le ou les modèles retenus ont été ceux présentant le plus faible AIC à 2 unités près. Lorsque plusieurs modèles avaient un AIC équivalent (différences d'AIC inférieures à 2), le principe de parcimonie a été appliqué et le modèle au plus faible nombre de paramètres a été sélectionné (Dohoo, Martin, Stryhn 2009).

Les travaux de discrimination de classes de poids, d'exploration et sélection de la base de données, ainsi que d'analyse statistique ont été réalisés grâce au logiciel R.

II.A.4.c - Cartographie des animaux infectés

La carte de la zone d'étude (Figure 4, Figure 5 et Figure 8) a été réalisée sur le logiciel QGIS, reconstituée à l'aide des couches cartographiques de base (fournies par les contributeurs d'OpenStreetMap sous licence ODbL), ainsi que les cartes de zonage de la forêt de Brotonne fournies par l'ONF. Pour réaliser la cartographie des cas infectés (Figure 4), les différentes espèces infectées par la tuberculose bovine, lorsque la donnée était disponible, ont été rassemblées dans un tableau sur le logiciel Excel. Des tableaux ont ainsi été constitués pour les sangliers, ainsi que pour les foyers bovins au voisinage des massifs de Brotonne-Mauny, avec une localisation respectivement au centroïde de la zone de chasse, ou au centroïde du parcellaire. Les données disponibles pour les cerfs manquant pour un grand nombre d'entre eux d'informations de localisation, ils n'ont pas été intégrés à la cartographie. Les zones du massif forestier ont été divisées comme suit : les 7 lots de chasse de la forêt domaniale de Brotonne, les 3 forêts communales de Vatteville-la-Rue, Saint-Nicolas-de-Bliquetuit et Notre-Dame-de-Bliquetuit, et les communes dans lesquelles des bois privés se situent en périphérie de Brotonne et à Mauny. Les données de surveillance pour les blaireaux ont également été ajoutées à cette carte à partir de l'étude réalisée l'année passée à Brotonne (De Moncuit 2017).

II.B - Résultats

II.B.1 - Exploration des biais de l'échantillon

L'échantillon de sangliers analysés sur le massif de Brotonne-Mauny pendant les saisons de chasse 2005 à 2016 et dont les résultats d'identification microbiologique étaient certains représentait 2442 individus. Au sein de cet échantillon, la répartition des individus infectés par *M. bovis* a été obtenue pour chacune des variables explicatives choisies comme potentiels facteurs de risque, à savoir : la saison, la zone de chasse, l'âge et le sexe (Tableau 3).

Tableau 3 - Distribution des individus infectés par *M. bovis* dans l'échantillon

P1 : forêts communales voisines du lot 1 ; P3 : bois privés voisins du lot 3 ; P4 : bois privés voisins du lot 4 ; P5 : bois privés voisins du lot 5 ; P6 : bois privés voisins du lot 6

Saison	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Non infectés	92	211	161	178	150	221	198	204	196	198	194	195
Infectés	64	99	39	22	1	1	2	1	5	5	4	1
Pourcentage d'infectés	41.03	31.94	19.50	11.00	0.66	0.45	1.00	0.49	2.49	2.46	2.02	0.51

Zone	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Mauny	P1	P3	P4	P5	P6
Non infectés	251	327	197	226	311	212	112	43	111	57	4	1	71
Infectés	31	25	19	17	38	42	18	2	14	10	0	0	11
Pourcentage d'infectés	10.99	7.10	8.80	7.00	10.89	16.54	13.85	4.44	11.20	14.93	0.00	0.00	13.41

Age	Jeune	Adulte
Non infectés	1423	479
Infectés	123	102
Pourcentage d'infectés	7.96	17.56

Sexe	Femelle	Mâle
Non infectés	975	920
Infectés	112	105
Pourcentage d'infectés	10.30	10.24

Des tests de Khi-deux comparant ces distributions à une répartition homogène parmi les modalités de chaque variable ont montré qu'elles variaient selon la saison ($\chi^2 = 487.99$, p-value < 2.2e-16), la zone ($\chi^2 = 19.877$, p-value = 0.005843) et l'âge ($\chi^2 = 40.134$, p-value = 2.371e-10), mais pas selon le sexe ($\chi^2 = 3.3532e-29$, p-value = 1). Des explorations graphiques et par modèle linéaire généralisé de cette variable deux à deux avec chacune des autres n'ont pas mis en évidence d'effet sur le risque d'infection. Le sexe a donc été jugé sans effet sur l'infection dans l'échantillon, et n'a donc plus été pris en compte dans la suite des analyses.

La sélection des données complètes pour les variables saison, zone et âge a réduit le nombre d'enregistrements à 2079 sur les 2442 initiaux (soit 85% de données d'intérêt complètes). Cependant, la proportion de données complètes a varié au cours de la période d'étude, ce qui a modifié les proportions d'individus infectés en particulier pour les saisons 2006 et 2007 pour lesquelles beaucoup de données sont restées manquantes (respectivement 51% et 61% d'enregistrements incomplets, contre moins de 10% les autres années). Ainsi ces saisons comportaient respectivement 54,61% et 35,90% d'infectés parmi les données complètes, contre 31,94% et 19,50% parmi l'échantillon total. Les proportions d'individus infectés parmi les données complètes n'étaient donc pas strictement représentatives de l'échantillon initial, en particulier en début de période d'étude.

La composition en âge de l'échantillon a été constante entre les zones, ainsi qu'un test du Khi-deux a semblé l'indiquer ($\chi^2 = 13.2$, p-value = 0.07296). Un biais de confusion lié à la structure d'âge entre les différentes zones n'était donc pas à craindre. En revanche, la composition en âge n'a pas été stable dans le temps, les échantillons étudiés contenant de plus en plus de jeunes individus (Figure 6). Il fallait donc prendre en compte un potentiel effet de confusion entre âge et saison sur l'infection, que l'inclusion de ces variables et de leur interaction dans l'analyse multivariée permettrait de résoudre (partie II.B.2).



Figure 6 - Evolution de la proportion d'individus de plus d'un an dans l'échantillon

II.B.2 - Analyse exploratoire de l'évolution de l'infection

II.B.2.a - Exploration graphique des variables âge et saison de chasse

L'évolution temporelle de l'infection par *M. bovis* a montré une tendance globale à la baisse, très marquée jusqu'en 2009. Cependant, la forme de la courbe a été différente selon la classe d'âge dans l'échantillon sélectionné (Figure 7). Il semble que les adultes (plus d'un an soit plus de 61 kg) aient été généralement plus infectés que les jeunes, mais qu'en 2005, cette tendance ait été inversée. Cette structure dans les données a justifié l'intégration de l'interaction entre âge et saison dans la modélisation statistique de l'infection (partie II.B.3). Aucune hypothèse biologique n'ayant pu être apportée à cette inversion de tendance, et celle-ci n'ayant pas été observée dans l'échantillon initial comprenant les enregistrements incomplets (Annexe 1), l'interaction observée a donc été interprétée comme un artéfact dû à la sélection des données complètes. Pour les deux classes d'âges, une séparation nette de l'évolution de l'infection a été observée en 2009. A partir de cette saison de chasse, la proportion de sangliers infectés a chuté sous les 0,5% et a semblé stable sur toute la fin de la période d'étude.

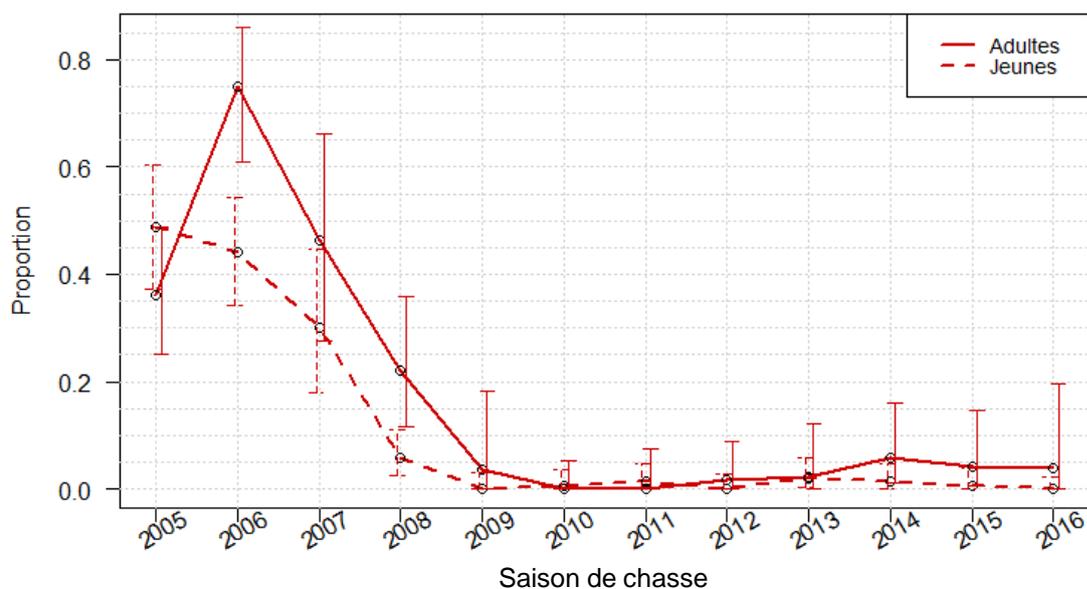


Figure 7 - Evolution de la proportion d'infectés par classe d'âge entre 2005 et 2016
Adultes : individus de plus d'un an (plus de 61 kg). Jeunes : individus de moins d'un an.

II.B.2.b - Exploration graphique des variables zone et saison de chasse

L'exploration des effectifs échantillonnés par saison et par zone a montré de faibles effectifs croisés pour certains cas (Tableau 4). Les secteurs périphériques (Mauny et P1, P3 à P6) ont été le plus souvent mal représentés dans l'échantillon. Il en a été de même pour le lot 7 et le lot 3 en début de période d'étude. Par ailleurs, l'année 2007 a comporté peu de données complètes en dehors du lot 5. Les secteurs périphériques ainsi que la saison 2007 ont donc été exclus de l'analyse multivariée (partie II.B.3) afin de considérer un échantillon le plus spatialement représentatif du territoire pour chaque saison étudiée.

Tableau 4 - Effectifs par saison et zone dans l'échantillon

P1 : forêts communales voisines du lot 1 ; P3 : bois privés voisins du lot 3 ; P4 : bois privés voisins du lot 4 ; P5 : bois privés voisins du lot 5 ; P6 : bois privés voisins du lot 6

Zone	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Mauny	P1	P3	P4	P5	P6
2005	19	12	4	12	26	24	10	6	17	10	0	0	7
2006	28	21	8	5	20	22	12	2	9	9	0	0	16
2007	7	4	5	3	35	11	9	1	2	1	0	0	0
2008	36	23	17	38	20	20	13	8	6	7	0	0	2
2009	13	32	16	14	24	9	12	14	9	3	1	0	0
2010	17	35	39	17	25	22	16	8	22	6	3	1	11
2011	24	25	24	33	44	22	8	0	12	0	0	0	8
2012	29	41	13	20	31	34	2	0	8	8	0	0	0
2013	31	44	21	25	25	17	10	0	9	2	0	0	5
2014	24	41	19	32	31	25	9	0	9	1	0	0	7
2015	22	24	18	20	32	18	19	0	5	17	0	0	10
2016	20	37	27	16	32	27	9	0	7	0	0	0	10

L'évolution de la proportion d'infectés par *M. bovis* dans ce nouvel échantillon ainsi filtré a semblé varier selon la zone, bien que baissant globalement dans l'ensemble du massif (Tableau 5). Une interaction entre la zone et la saison de chasse a donc été prise en compte dans la modélisation statistique de l'infection pour tester sa significativité (partie II.B.3). Comme pour les classes d'âge, une rupture nette dans l'évolution de l'infection a été observée pour les zones en 2009. Seulement 18 individus infectés ont été observés dans l'échantillon à partir de 2009 tous lots confondus. Pour l'analyse multivariée (partie II.B.3), ces 8 saisons de chasse, pour lesquelles il a été observé en outre une relative stabilité temporelle de la proportion d'infectés (Figure 7), ont donc été regroupées en une même modalité. Il est cependant à noter que sur la période 2009-2016 certains lots semblaient plus touchés par la tuberculose, avec une infection détectée à intervalles de 1 à 2 ans dans les lots 3 et 4, contre 3 à 5 ans dans les lots 1, 2 et 5, jusqu'à 6 ans dans le lot 6, et jamais dans le lot 7 (Tableau 5).

Tableau 5 - Evolution de la proportion d'infectés par zone entre 2005 et 2016

Zone		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7
Saison	2005	42.11	25.00	75.00	41.67	57.69	62.50	60.00
	2006	53.57	57.14	50.00	40.00	30.00	72.73	41.67
	2008	5.56	8.70	11.76	7.89	10.00	15.00	23.08
	2009	0.00	3.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2010	5.88	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2011	0.00	0.00	4.17	3.03	0.00	0.00	0.00
	2012	0.00	0.00	0.00	0.00	3.23	0.00	0.00
	2013	0.00	0.00	4.76	12.00	0.00	0.00	0.00
	2014	4.17	2.44	0.00	0.00	0.00	12.00	0.00
	2015	0.00	0.00	5.56	5.00	3.12	0.00	0.00
	2016	0.00	0.00	3.70	0.00	0.00	0.00	0.00

II.B.2.c - Exploration graphique de l'interaction entre l'âge, la zone et la saison de chasse

Une représentation graphique de l'évolution de la proportion d'infection par zones et classes d'âges a permis d'observer des variations différentes de cette proportion (Figure 8). L'inversion de tendance artificielle selon les classes d'âges entre 2005 et 2006 observée sur l'ensemble du massif (Figure 7) semble s'être produite dans l'ensemble des lots, mis à part le 3 et le 4 pour lesquels les faibles effectifs échantillonnés sur ces deux saisons de chasse (Tableau 4) n'ont pas permis d'identifier de tendance. Une interaction triple entre âge, zone et saison de chasse a donc été considérée dans l'analyse multivariée de l'infection (partie II.B.3). Les points pleins et absents sur les graphiques ont mis en évidence les potentielles limites de calcul pour l'analyse multivariée liées au croisement des effectifs d'infectés entre ces trois variables.

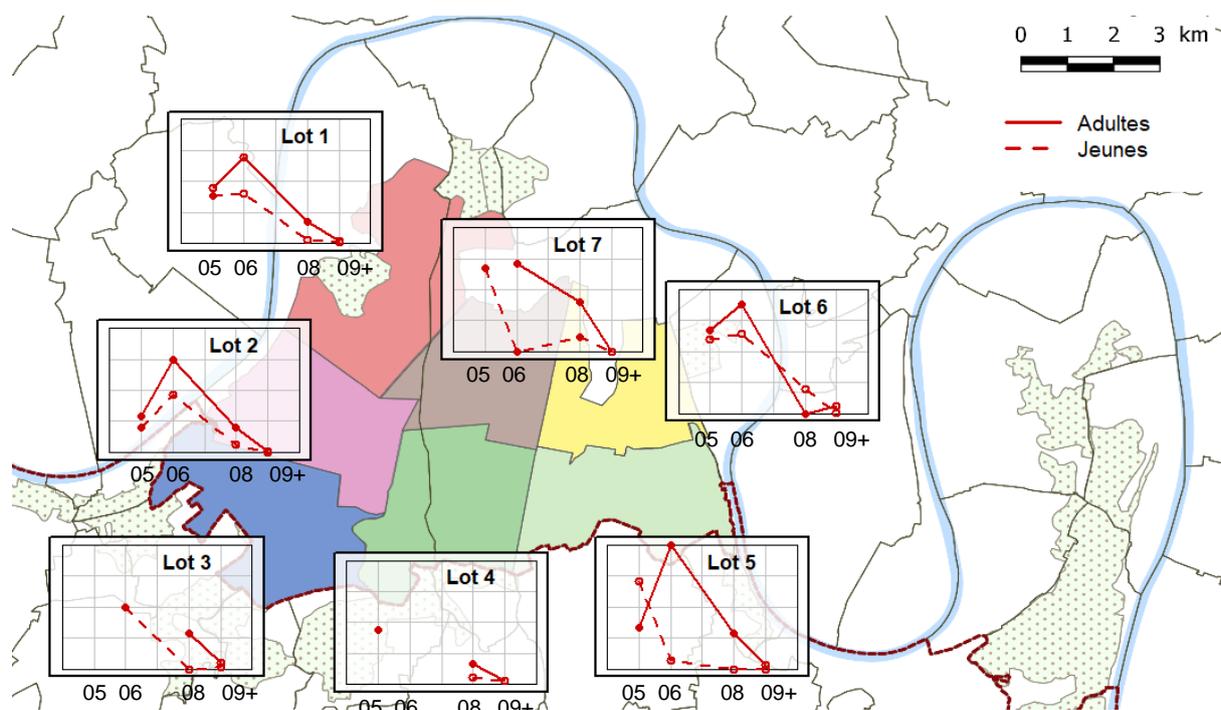


Figure 8 - Evolution de la proportion d'infectés par âge et zone

Adultes : individus de plus d'un an (plus de 61 kg). Jeunes : individus de moins d'un an

Les limites des ordonnées des graphiques correspondent à des proportions de 0 (minimum) et 1 (maximum), et les lignes horizontales grises sont espacées de 0,25.

Les lignes verticales grises correspondent à toutes les saisons de 2005 (05) à "2009 et après" (09+).

Les proportions ne sont pas calculées avec moins de 5 individus. Les points pleins correspondent à des proportions calculées avec moins de 10 individus, mais plus de 5 individus. Les points vides correspondent à des proportions calculées avec 10 individus ou plus.

II.B.3 - Evolution spatio-temporelle de la proportion de sangliers infectés

Deux hypothèses du risque d'infection lié à la géographie ont été explorées en regroupant les modalités de la variable zone selon deux possibilités (testées au sein de modèles différents) :

- 1- Risque lié au mode de gestion de la population de sangliers : regroupement des lots 3, 4, 5, 6 gérés par un même adjudicataire faisant de la chasse commerciale potentiellement conservatrice de population, et des lots 1, 2, 7 gérés par des adjudicataires individuels suivant les recommandations de gestion de l'ONF. (Tableau 6).
- 2- Risque lié à la proximité avec des foyers bovins à la périphérie du massif entre 2003 et 2016 : regroupement des lots 1, 3, 4, 6 au voisinage des foyers bovins de 2003, 2006 et 2013, et des lots 2, 5, 7 plus éloignés de ces foyers (Tableau 7).

Pour ces deux hypothèses épidémiologiques, le même modèle a été sélectionné par la méthode descendante appliquée, qui retient l'effet de la saison de chasse, de la zone (quel que soit le regroupement choisi), de la classe d'âge et de l'interaction entre âge et saison de chasse (Tableau 6 et Tableau 7). La qualité d'ajustement des deux modèles est équivalente (AIC de 589,05 et 588,91), les odds ratio (OR) estimés sont très proches entre ces deux hypothèses (Tableau 6 et Tableau 7), et chacun des deux modèles explique environ

57% de la variabilité de la proportion d'infectés (Annexe 4 Tableau 13 et Tableau 14). Sur un plan statistique cette similarité n'est pas parue surprenante dans la mesure où les deux regroupements avaient en commun 3 lots sur 4 dans une même classe supposée à risque. Les deux modèles ont retenu que la zone avait un effet sur la probabilité d'infection, les lots gérés de façon indépendante ou ceux éloignés des foyers bovins étant significativement moins infectés que les autres (OR de 1,58 et 1,59). L'analyse n'a malheureusement pas permis de trancher entre ces deux hypothèses, qui ne sont d'ailleurs pas exclusives sur un plan épidémiologique. Ce différentiel de risque entre lots a semblé cependant modéré en regard des effets de l'âge et du temps. Selon les deux meilleurs modèles, les adultes et sub-adultes ont été nettement plus souvent infectés que les jeunes (OR de 4,47 et 4,40). Toutes les saisons considérées avant 2009 ont été significativement plus infectées que sur la période 2009 à 2016, et ce risque est décroissant avec le temps, comme l'analyse exploratoire l'avait laissé imaginer. L'effet de l'interaction simplifiée artéfactuelle entre âge et saison de chasse a été retenu par les deux modèles, mais pas celui de l'interaction de second ordre entre âge, zone et saison de chasse, ni celui de l'interaction entre zone et saison de chasse.

Tableau 6 - Paramètres explicatifs de l'infection selon le modèle sous l'hypothèse du risque géographique par adjudicataire (AIC = 589,05)

Facteur	Modalités	Effectifs	Proportion d'infectés [IC95%]	Odds Ratio [IC95%]	Valeur p
Saison	2005	107	0.514 [0.415-0.612]	158.439 [74.929-349.907]	< 2e-16 ***
	2006	116	0.517 [0.423-0.611]	88.453 [48.290-170.066]	< 2e-16 ***
	2008	167	0.102 [0.060-0.158]	8.482 [4.191-17.123]	1.97e-09 ***
	2009-2016	1316	0.014 [0.008-0.022]	Ref	
Zone	Lots 1-2-7	718	0.084 [0.064-0.106]	Ref	
	Lots 3-4-5-6	988	0.091 [0.074-0.111]	1.581 [1.018-2.480]	0.0435 *
Classe d'âge	Jeunes (\leq 61kg)	1264	0.060 [0.048-0.075]	Ref	
	Adultes ($>$ 61kg)	442	0.167 [0.134-0.206]	4.472 [2.633-7.714]	4.23e-08 ***
Age :Saison	Adulte 2005	51	0.471 [0.329-0.615]	0.167 [0.065-0.422]	0.0002 ***
	Autres	1655	0.076 [0.064-0.090]	Ref	

Tableau 7 - Paramètres explicatifs de l'infection selon le modèle sous l'hypothèse du risque géographique par proximité avec des foyers bovins (AIC = 588,91)

Facteur	Modalités	Effectifs	Proportion d'infectés [IC95%]	Odds Ratio [IC95%]	Valeur p
Saison	2005	107	0.514 [0.415-0.612]	165.640 [78.099-367.204]	< 2e-16 ***
	2006	116	0.517 [0.423-0.611]	83.931 [46.029-160.617]	< 2e-16 ***
	2008	167	0.102 [0.060-0.158]	8.091 [3.999-16.324]	4.32e-09 ***
	2009-2016	1316	0.014 [0.008-0.022]	Ref	
Zone	Lots 1-3-4-6	941	0.098 [0.080-0.119]	1.589 [1.025-2.486]	0.0401 *
	Lots 2-5-7	765	0.076 [0.058-0.097]	Ref	
Classe d'âge	Jeunes (\leq 61kg)	1264	0.060 [0.048-0.075]	Ref	
	Adultes ($>$ 61kg)	442	0.167 [0.134-0.206]	4.398 [2.589-7.584]	5.86e-08 ***
Age :Saison	Adulte 2005	51	0.471 [0.329-0.615]	0.154 [0.060-0.393]	9.60e-05 ***
	Autres	1655	0.076 [0.064-0.090]	Ref	

II.C - Discussion

II.C.1 - Limites du jeu de données

Le jeu de données utilisé pour cette étude est très riche avec près de 2500 enregistrements. Les possibilités de calculs semblent donc nombreuses. Cependant, la décomposition par année, âge et secteur a fortement réduit les effectifs, et d'autant plus les effectifs infectés, pour chaque sous-catégorie. En particulier, la faible prévalence sur la période 2009-2016 a limité les possibilités d'analyse détaillée sur la fin de la période d'étude, pour laquelle la maladie semble avoir une présentation différente de la première période : stabilité à une prévalence inférieure à 0,5%, effectifs peu distincts entre jeunes et adultes/sub-adultes infectés, lésions quasiment systématiques chez les individus infectés. Or c'est cette période qui est la plus intéressante pour comprendre les facteurs de persistance récente de l'infection. Le problème d'événements rares est qu'ils sont par essence difficiles à étudier du fait de la faible proportion de cas. La rareté des cas a évidemment limité la puissance des calculs dans l'analyse multivariée, ce qui peut expliquer que certaines interactions graphiquement apparentes, comme l'interaction triple entre saison, âge et zone, ne soient pas ressorties significativement dans le résultat de l'analyse.

Les données de commémoratifs incomplètes sont à l'origine d'un biais de sélection de l'échantillon analysé statistiquement, en 2006-2007 majoritairement. Ainsi, selon la localisation et le poids du sous-échantillon dont ces informations manquaient, les évolutions spatio-temporelles modélisées de l'infection ont été potentiellement différentes entre la population échantillonnée au départ et celle qui a été analysée statistiquement. Ce biais de sélection a pu éloigner encore plus de la représentativité de l'échantillon qui était recherchée dans le protocole de surveillance (partie III.B.1). Ces données manquantes traduisent en partie les manques de rigueur dans le protocole de surveillance et dans la récolte des données, en particulier en début de période d'étude. Ces défauts ont également rendu le travail de nettoyage et consolidation des données très difficile. L'appui des experts locaux et nationaux qui ont suivi le programme de surveillance depuis le début a donc été précieux pour l'interprétation des tableaux de données bruts, à la fois au niveau de la localisation des individus, de la description des lésions et des résultats d'analyses microbiologiques.

Le rajeunissement de la population échantillonnée pourrait expliquer, en partie seulement, la baisse de proportion d'infectés puisqu'il a été montré un risque d'infection accru chez les animaux de plus d'un an. Il aurait donc pu y avoir une sous-détection de l'infection dans la population et en particulier chez les individus les plus âgés, mais il est difficile de confirmer cette hypothèse car la population de sangliers du massif n'est qu'estimée au travers des tableaux de chasse. La représentativité en âge de l'échantillon étudié est discutée plus loin (partie III.B.1).

Une sous-détection pourrait aussi être présente dans les zones périphériques à la forêt domaniale (massif de Mauny, forêts communales et bois privés) dont les effectifs échantillonnés sont faibles. Là encore,

une comparaison avec les tableaux de chasse sera faite plus loin (partie III.B.1) afin de mieux discuter de la représentativité spatiale de l'échantillon en regard du tableau de chasse.

II.C.2 - Pistes d'interprétation

Comme il est généralement observé chez le sanglier dans le monde et comme il a été précédemment montré en forêt de Brotonne, le sexe n'est pas un facteur de risque pour l'infection par *M. bovis* dans la population étudiée (Zanella, Durand, et al. 2008; Santos et al. 2012; Di Marco et al. 2012; Gortazar et al. 2015). En revanche, le risque d'infection augmente avec l'âge des individus, traduisant un cumul d'exposition au cours du temps typique d'une infection chronique et souvent observé dans l'épidémiologie de la tuberculose bovine chez le sanglier (Santos et al. 2012; Vicente et al. 2006).

La chute de prévalence apparente de 41% à 0,7% entre 2005 et 2009 peut être interprétée comme le résultat des mesures de gestion dans le massif de Brotonne. En particulier, cette chute apparaît liée à la stratégie d'éradication des cerfs mise en œuvre entre 2006 et 2009, ceux-ci ayant été considérés à l'époque comme réservoirs de l'infection pour les sangliers, qui étaient alors considérés comme simple hôte de liaison vis-à-vis des bovins (McInerney, Small, Caley 1995; Zanella, Durand, et al. 2008; Nugent, Gortazar, Knowles 2015). La chute spectaculaire du niveau d'infection dans la population de sangliers pourrait aussi être liée à l'augmentation simultanée de la pression de chasse sur cette espèce dans la zone d'étude, ayant permis de renouveler rapidement la population (Nugent, Gortazar, Knowles 2015).

Cependant, la persistance de la tuberculose à très bas bruit chez le sanglier, observée depuis 2009, suscite un questionnement quant au rôle de cette espèce dans le maintien de la maladie, puisqu'elle était jusqu'alors considérée comme simple hôte de liaison (Zanella et al. 2012). Le fait que de jeunes individus soient infectés indique une infection au cours des 6 à 12 mois précédents. Il pourrait y avoir dans le massif de Brotonne une transmission à bas bruit chez les sangliers, restreinte au sein de rares compagnies comme l'évoquait déjà le rapport d'enquête de 2008 (*Rapports d'enquête annuels 2002-2017*). Certaines lignées matriarcales pourraient maintenir l'infection grâce à la forte proximité des individus au sein d'un groupe social, suffisante pour permettre une transmission intraspécifique (Gortazar et al. 2015). Néanmoins, l'absence de résultat sérologique positif observé au sein de la population depuis 2015 (sur 119 sérums analysés), et le fait de n'avoir retrouvé des animaux infectés que chez des individus porteurs de petites lésions plus ou moins « actives » dans les nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires (Tableau 8) pose la question de la transmission de la tuberculose sous un mode très peu contagieux (voir discussion partie III.C.2). De plus, la technique de chasse en battue pouvant amener à chasser simultanément les individus d'un même groupe social infecté, cet « effet compagnie » pourrait expliquer l'identification ponctuelle de plusieurs individus infectés au même lieu de chasse (en 2013, 2014 et 2015 notamment où 2 à 3 individus infectés proviennent de la même parcelle) alors qu'à l'inverse il est possible de ne détecter aucun animal positif à l'échelle d'un lot pendant plusieurs

saisons consécutives (6 ans pour le lot 6). La présence de tuberculose bovine au sein de ces groupes pourrait être issue de leur historique d'exposition à l'époque de forte prévalence chez les autres espèces, en particulier dans le sud-ouest du massif chez les bovins (Maeder 2007; *Rapports d'enquête annuels* 2002-2017) et plus récemment au nord-est. De façon moins probable, elle pourrait être le témoin d'un environnement encore actuellement contaminé par une autre espèce réservoir (rares cerfs restants et surtout bovins ou petits ruminants) dont les sangliers joueraient le rôle de sentinelle (Nugent, Gortazar, Knowles 2015), mais l'absence de détection de cas chez les autres espèces sauvages depuis 2005 et en particulier les blaireaux dans et autour du massif (Figure 4), réputés eux aussi pour être des sentinelles en lisière de massifs forestiers (Payne 2014), ne plaide pas en faveur d'une circulation environnementale de *M. bovis*. De faibles prévalences ont également été observées en Australie chez des porcs sauvages plusieurs années après éradication du foyer primaire constitué par les buffles d'eau (McInerney, Small, Caley 1995). La tuberculose s'est progressivement éteinte chez le porc sauvage d'Australie, pays qui est indemne de cette maladie depuis la fin des années 1990. Cette situation historique apporte un espoir quant aux possibilités d'extinction de la tuberculose chez le sanglier en forêt de Brotonne. A ce stade, il convient néanmoins de rester vigilant et prudent, notamment de ne pas laisser la densité augmenter dans les populations de sangliers, facteur connu pour favoriser l'installation de la maladie dans cette espèce (Santos et al. 2012), et de confirmer l'absence de circulation dans les populations domestiques, en particulier au sud du massif.

Le regroupement des zones réalisé au cours du travail de modélisation statistique visait à tester deux hypothèses épidémiologiques (influence du mode de gestion de la population ou de la proximité avec les foyers bovins historiques), mais ces regroupements étant très superposés (lots 3, 4 et 6) cette approche n'a pas permis de privilégier l'une ou l'autre hypothèse. Il est à noter que le faible différentiel de risque entre lots et le fait que la tuberculose soit observée dans 6 lots au cours des 8 dernières années, rendent la structure spatiale du risque très modérée. Le léger sur-risque observé dans certains lots (3, 4 et 6 notamment) pourrait résulter : (i) de leur mode de gestion pouvant avoir favorisé la survie de femelles plus âgées (mémoire de l'infection historique), (ii) d'une exposition historique des sangliers à des foyers bovins survenus en bordure de massif, (iii) de l'infection dans les bois privés bordant la forêt domaniale mais très faiblement échantillonnés (*Rapports d'enquête annuels* 2002-2017). D'une façon beaucoup moins probable, il serait imaginable que certains lots hébergeraient les derniers cerfs présents dans le massif, devenus quasiment impossibles à chasser et potentiellement excréteurs de *M. bovis*, ou bien des foyers de ruminants domestiques non encore détectés en bordure de massif pourraient maintenir la contamination de ces lots de chasse. La dilution de la structure spatiale du risque observée peut être en partie expliquée par la technique de chasse en battue provoquant un important dérangement des groupes de sangliers qui seraient alors chassés jusque plusieurs kilomètres en dehors de leur domaine vital, perdant ainsi l'information de leur véritable zone origine (Scillitani, Monaco, Toso 2010).

II.D - Conclusion

Les mesures de gestion appliquées à partir de 2002, puis le plan d'éradication des cerfs mis en place en 2006 ont radicalement réduit le niveau d'infection chez les sangliers, confirmant leur statut d'hôtes de transition pour la tuberculose bovine dans ce contexte. Cependant, la difficulté d'éradiquer la tuberculose dans la faune sauvage est démontrée ici. En effet, la persistance chez cette espèce d'une infection à bas bruit et toujours en circulation chez les jeunes laisse envisager l'hypothèse d'une transmission intraspécifique localisée à certaines compagnies, éventuellement réalimentée par des contaminations environnementales persistantes dans ou en bordures sud et est du massif. Afin d'orienter ces hypothèses épidémiologiques permettant ensuite d'adapter les mesures de gestion de la maladie dans le secteur, une investigation des différents axes serait souhaitable. Ainsi, le dépistage synchronisé de la tuberculose bovine dans un maximum d'élevages bovins en périphérie de massif et en particulier dans l'Eure permettrait d'identifier un possible réservoir non détecté à ce jour. Le dépistage ante-mortem n'étant pas réalisé chez les petits ruminants, cette source potentielle de contamination ne pourra pas être explorée rapidement, d'autant plus qu'il y a dans cette zone de petits détenteurs dont les animaux bénéficient d'une moins bonne surveillance. En lien avec cette hypothèse de foyers au sud, il peut être aussi demandé d'échantillonner davantage de sangliers dans les bois privés en sud de massif, afin de dépister plus efficacement une possible présence de tuberculose bovine dans ces populations ou leur environnement.

L'hypothèse de la gestion de population est plus difficile à investiguer : il faudrait demander aux chasseurs de cibler les noyaux reproducteurs et donc d'impacter la population de sangliers, afin de rechercher la bactérie dans les compagnies anciennes des zones refuges (lots 3 et 4 en particulier). Concernant l'hypothèse moins probable d'un éventuel réservoir persistant chez les cerfs restants du massif, elle sera très difficile à apprécier puisque ces individus sont devenus quasiment impossibles à chasser et donc à inspecter.

La complexité de l'épidémiologie de la tuberculose bovine, maladie multi-hôtes chronique et difficile à diagnostiquer, est bien illustrée en forêt de Brotonne. Les méthodes de modélisation simples utilisées dans cette étude ne prenant pas en compte les interfaces entre espèces hôtes et étant limitées par les faibles effectifs infectés en fin de période d'étude, il aurait pu être intéressant d'appliquer une méthode de modélisation plus complexe. En effet, un travail mené par Zanella et al. (2012) sur la forêt de Brotonne modélisait finement les facteurs de risque interspécifiques. Ce même travail arrivait à la conclusion qu'un scénario d'éradication des cerfs et maintien de la population de sangliers pouvait mener à l'assainissement de cette population autour de 2035 à 2068 selon la rigueur de l'élimination des viscères. Les prédictions épidémiologiques faites par ce modèle sont donc en accord avec ce qui est observé dans la réalité actuellement.

Partie III - Performance et pistes d'amélioration du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine en forêt de Brotonne

Les programmes annuels de surveillance de la tuberculose dans la faune sauvage ont été mis en place en forêt de Brotonne à partir de 2005, dans l'objectif premier de dépister l'infection, puis de suivre son évolution suite aux mesures de contrôle mises en place. Les sangliers sont les plus rigoureusement suivis du fait de leur rôle avéré de sentinelle de la maladie, c'est-à-dire que cette population permet de détecter finement une présence environnementale de l'agent pathogène. Initialement prévu pour détecter la présence de la maladie dans la population, le protocole mis en place a aussi permis d'évaluer une prévalence apparente relative à l'échantillon inspecté, qu'il faut ensuite essayer d'inférer à une population plus large. Cependant, le protocole d'échantillonnage des individus a été établi dans un contexte de forte prévalence, et les modifications multiples du protocole de laboratoire laissent supposer une source potentielle de biais dans l'estimation de la prévalence d'infection, puisque la sensibilité du diagnostic a pu en être modifiée. La question de la continuité de la qualité de l'échantillonnage, associé à la performance des protocoles de diagnostic successifs, se pose donc pour le dépistage d'une prévalence ayant aussi évolué au cours du temps. Cette question de la puissance de détection et du seuil de prévalence détectable se pose d'autant plus dans le contexte actuel où la proportion diagnostiquée positive est très faible, avec certains prélèvements positifs qui n'ont réagi qu'à l'un des deux (voire trois) tests de dépistage utilisés.

III.A - Matériel et méthodes

III.A.1 - Territoire d'étude et protocole de dépistage

Le territoire étudié et les protocoles d'échantillonnage et de diagnostic de laboratoire ont été identiques à ceux présentés en II.A.1 et II.A.2. La base de données utilisée a été celle présentée en II.A.3.

III.A.2 - Evaluation de la représentativité de l'échantillon

La représentativité de l'échantillon a d'abord été évaluée afin d'identifier et corriger d'éventuels biais de sélection qui fausseraient l'estimation de prévalence calculée sur l'échantillon. Comme la population cible des sangliers du massif de Brotonne est de taille et de structure inconnue, puisqu'il s'agit de faune sauvage, il a été impossible de comparer la structure de l'échantillon à cette population. Sa structure a donc été comparée à la population chassée, parmi laquelle une sélection aléatoire devait être appliquée pour définir l'échantillon d'analyse. L'échantillon étudié était donc théoriquement représentatif de la population chassée, mais il s'est agi de le vérifier.

Les facteurs de risque de l'infection identifiés dans la partie II ont été la base de la comparaison de structure des deux populations, à savoir l'âge, la localisation et la saison de chasse. En effet, un biais de

sélection parmi l'un ou plusieurs de ces facteurs de risque pourrait modifier la proportion d'individus infectés de l'échantillon. Le sexe des individus a également été comparé, bien que ne semblant pas représenter un facteur de risque dans le contexte étudié. La population chassée est enregistrée à chaque saison de chasse dans les bases de données de l'ONF qui gère le massif de Brotonne. Pour certaines années un bilan par individus était disponible, mais ne disposant pas d'un tel détail sur toute la période étudiée les populations ont été comparées en analyse univariée uniquement. Les catégories pour la variable zone et la variable classe d'âge dans les tableaux de chasse sont différentes de celles récoltées pour la surveillance de la tuberculose. Les classes de poids ont ainsi été distinguées avec un seuil de 50 kg (au lieu de 61 kg défini en II.A.3), et les zones regroupaient les lots 3 à 6, ainsi que l'ensemble des bois privés. Les modalités de ces variables ont donc été regroupées différemment dans la base de données étudiée, afin de correspondre à celles des tableaux de chasse. Pour chacune des variables d'intérêt, une exploration graphique de l'évolution des proportions dans la population chassée et échantillonnée a été réalisée, ainsi que des tests de Fisher afin de tester la significativité des différences de proportions observées chaque saison. Les proportions étaient jugées significativement différentes lorsque la p-value du test était inférieure à 0,05.

III.A.3 - Construction d'un indicateur de prévalence

Afin d'obtenir un estimateur de la prévalence réelle de la population des sangliers chassés en forêt de Brotonne, des corrections de la prévalence apparente ont été apportées afin de tenir compte :

- D'une probabilité de sélection non égale pour tous les individus de l'échantillon (résultats du III.B.1). Pour chaque année, un poids (l'inverse de la probabilité de sélection) a été calculé pour chaque individu sur la base de son origine géographique (Dohoo, Martin, Stryhn 2009) corrigeant ainsi la sur ou sous-représentation de certaines zones de chasse dans l'échantillon.

Pour ces calculs, il n'a pas été tenu compte des 45 individus provenant du massif de Mauny, car cette zone a été peu surveillée et se trouve à distance du cœur du foyer étudié (plus aucun cas détecté après 2008). Les individus sans donnée de localisation renseignée ont également été écartés.

- De la sensibilité du protocole de diagnostic, variable au cours du temps et également entre la population d'animaux à lésions et d'animaux sans lésion.

L'ensemble des calculs ont été réalisés sur le logiciel Excel.

Les caractéristiques intrinsèques des tests (sensibilité Se et spécificité Sp) utilisées ont été celles citées dans la thèse de Julie Rivière, basées sur des études chez les bovins adaptées à la faune sauvage selon dires d'experts (Rivière et al. 2017) : pour la culture au LAVD Se=0,508, pour la PCR au LAVD Se=0,7445, pour les analyses du LNR Se=0,9 et Sp=1. Ces valeurs ont ensuite été appliquées à l'historique du protocole de diagnostic sur la période 2005-2016. Cela a permis de calculer une sensibilité et une spécificité individuelle selon les évolutions du protocole. Le protocole de laboratoire étant différent selon que l'individu est porteur

ou non de lésions évocatrices de tuberculose, il a ainsi été distingué deux catégories de population pour chaque année : les individus présentant des lésions à l'inspection et les individus n'en présentant pas. Pour simplifier les calculs dans le protocole de laboratoire, il a été considéré que les individus à lésions ne portaient qu'une lésion dans l'un des organes prélevés systématiquement. En réalité, certains portaient plusieurs lésions et parfois dans des organes autres que l'ensemble de base, qui ont donc été prélevés en supplément. Ces cas de figure ont amélioré la sensibilité du diagnostic en multipliant les possibilités de détection, mais étant minoritaires et compliquant les calculs ils n'ont pas été considérés. La spécificité globale a été estimée à 1 car les méthodes de confirmation définitive au LNR, utilisant la biologie moléculaire, sont très performantes.

Pour chaque année et chaque catégorie de population (avec ou sans lésions), la sensibilité du protocole de diagnostic a été définie par :

$Se = \prod_i Se_i$ pour des tests diagnostiques de sensibilité Se_i connue réalisés en série ;

$Se = 1 - \prod_i (1 - Se_i)$ pour des tests diagnostiques de sensibilité Se_i connue réalisés en parallèle.

Ensuite, en fonction de ces sensibilités calculées et de l'effectif apparent d'infectés dans chacun des sous-échantillons avec et sans lésions de chaque zone, un effectif corrigé d'infectés a été calculé pour chaque catégorie de population (avec ou sans lésions) dans chaque zone et chaque année, par la formule suivante :

$$i_{cor} = i_{T+} + i_{T-} \quad \text{avec } i_{T-} = i_{T+} \left(\frac{1}{Se} - 1 \right), \text{ soit } \boxed{i_{cor} = \frac{i_{T+}}{Se}} \quad (1)$$

Avec i_{cor} l'effectif corrigé d'infectés pour chacune des sous-populations, i_{T+} l'effectif apparent d'infectés dans chaque sous-population et Se la sensibilité du diagnostic pour chaque catégorie de population.

Ces effectifs infectés ont été ensuite additionnés pour l'ensemble de la population échantillonnée par zone et année. La formule suivante a ainsi été appliquée :

$$\boxed{i_{zone} = i_{corL} + i_{corNL}} \quad (2)$$

Avec i_{zone} l'effectif d'infectés corrigé pour l'échantillon prélevé dans chaque zone, i_{corL} l'effectif corrigé d'infectés dans le sous-échantillon porteur de lésions de chaque zone, et i_{corNL} l'effectif corrigé d'infectés dans le sous-échantillon non porteur de lésions de chaque zone.

Enfin, un effectif annuel d'infectés ajusté a été calculé en pondérant les effectifs corrigés de chaque zone par le poids d'échantillonnage de chacune. Cette pondération permet de tenir compte d'un déséquilibre de l'échantillon tuberculose par rapport à la population chassée sur le massif. Une prévalence annuelle ajustée a ensuite pu être calculée. La formule appliquée a été la suivante :

$$\boxed{I = \sum_{zones} P_{zone} \times i_{zone}} \quad (3) \quad \text{avec } P_{zone} = \frac{N_{chassé\ zone}}{N_{échantillonné\ zone}}$$

Puis,

$$\boxed{P = \frac{I}{N_{chassé}}} \quad (4)$$

Avec I l'effectif annuel corrigé d'infectés, P_{zone} le poids d'échantillonnage de chaque zone, i_{zone} l'effectif d'infectés corrigé pour l'échantillon prélevé dans chaque zone, et P la prévalence annuelle corrigée.

Les intervalles de confiance à 95% de ces prévalences ont ensuite été calculés par simple méthode binomiale par la formule $IC_{95\%} = P \pm 1,96 \sqrt{\frac{P \times (1-P)}{n}}$ avec n l'effectif échantillonné et P la prévalence corrigée.

III.A.4 - Performance du système de surveillance

III.A.4.a - Optimisation de la surveillance par la détection des lésions

L'objectif de ce travail a été d'estimer si la détection de lésions suspectes permettait d'approcher au mieux le statut d'infection par *M. bovis* de l'échantillon. Une telle caractéristique permettrait d'affirmer que la recherche de lésions est un bon moyen de dépister l'infection et d'estimer son importance dans l'échantillon. Afin de comparer l'évolution des proportions d'individus infectés et à lésions au cours du temps, une exploration graphique et par corrélations de Spearman a été réalisée. Les proportions comparées étaient celle des individus portant des lésions suspectes de tous types prélevées pour analyse, celle des individus portant des lésions suspectes et actives (caséuses à purulentes, soit de scores 3 à 5, Annexe 7 Figure 21), des individus infectés par *M. bovis*, et des individus infectés par d'autres espèces de mycobactéries recherchées par les laboratoires d'analyse (principalement *M. avium*, et mycobactéries atypiques). Les tests de corrélation ont été appliqués aux proportions d'individus à lésions et infectés calculés à chaque saison de chasse.

L'analyse du profil lésionnel des sangliers infectés a enfin été réalisée afin d'évaluer l'efficacité à l'échelle individuelle du dépistage par la recherche de lésions, et de comprendre l'origine des éventuelles failles de ce dépistage. Le profil lésionnel des individus infectés a été analysé qualitativement et quantitativement à l'aide de tableaux de contingence par année. Les valeurs prédictives positives de la détection de lésions de tous types ont enfin été calculées pour chaque année de surveillance, par la formule suivante :

$$VPP = \frac{i_{corL}}{n_L} \quad (5)$$

Avec i_{corL} l'effectif d'infectés parmi les individus à lésions corrigé par la sensibilité de diagnostic, et n_L l'effectif total d'individus à lésions.

III.A.4.b - Evaluation de la puissance de détection du système actuel

La puissance de détection du protocole de surveillance programmée a été évaluée à l'aide de l'outil de calcul en ligne EpiTools (Sergeant 2018), dans la section « FreeCalc : Analyse results of freedom testing ». Dans un premier temps, des scénarios de prévalence réelle ont été testés pour un échantillonnage moyen à Brotonne, soit 200 individus sur 400 chassés, et selon la sensibilité maximale ou minimale du protocole (respectivement individus avec ou sans lésions), par une méthode de calcul hypergéométrique exacte (population « finie »). La probabilité de ne détecter aucun cas positif sous l'hypothèse de prévalence minimale a été ainsi calculée pour chacun des scénarios, équivalente à l'inverse de la confiance accordée à un statut indemne de la population.

Le protocole de surveillance de la forêt de Brotonne est ensuite comparé à celui mis en place dans les trois unités de gestion du cœur du département de la Côte d'Or (UG 5, 7 et 12), historiquement fortement touchées par la tuberculose bovine dans la faune sauvage, et par conséquent surveillées en surveillance programmée chez les sangliers dans le cadre du protocole établi par Sylvatub pour les zones à risque de niveau 3 (maximal). Les caractéristiques du diagnostic ont été choisies identiques à celles de Brotonne étant donné l'harmonisation des protocoles de laboratoire établie depuis 2012. Les paramètres comparés entre ces deux territoires sont donc les effectifs échantillonnés et chassés. La même méthode que précédemment a été appliquée, considérant cette fois un échantillonnage de 200 individus sur 1500 chassés et une méthode binomiale (population « infinie »). Les puissances de détection sont ainsi comparées pour la saison de chasse 2016-2017, afin de situer la performance du programme de Brotonne par rapport à un programme français suivant les recommandations de Sylvatub et sur une plus grande superficie.

III.B - Résultats

III.B.1 - Evaluation de la représentativité de l'échantillon

L'échantillonnage *a priori* aléatoire des individus lors de chaque saison de chasse s'est avéré variable au cours de la période d'étude, sauf pour la distribution des sexes qui est restée représentative de la population chassée (Figure 9 et Annexe 5 Figures 16 à 18). Une différence significative a été observée au niveau de la répartition des classes d'âges/poids, l'échantillon présentant globalement des individus légèrement plus jeunes/légers que dans la population chassée, en particulier en 2005 et 2010. Concernant la répartition des zones de chasse, il a été globalement observé, et ce depuis la saison 2006, une nette sous-représentation dans l'échantillon examiné des secteurs de chasse privés en périphérie de Brotonne et dans le massif de Mauny. Celle-ci a été compensée par une sur-représentation des lots de chasse en forêt domaniale, en particulier les lots 3 à 6 depuis 2007, et les autres lots ponctuellement selon les années. L'échantillon a semblé en revanche bien équilibré par rapport à la population chassée en ce qui concerne les trois forêts communales du nord du massif de Brotonne.

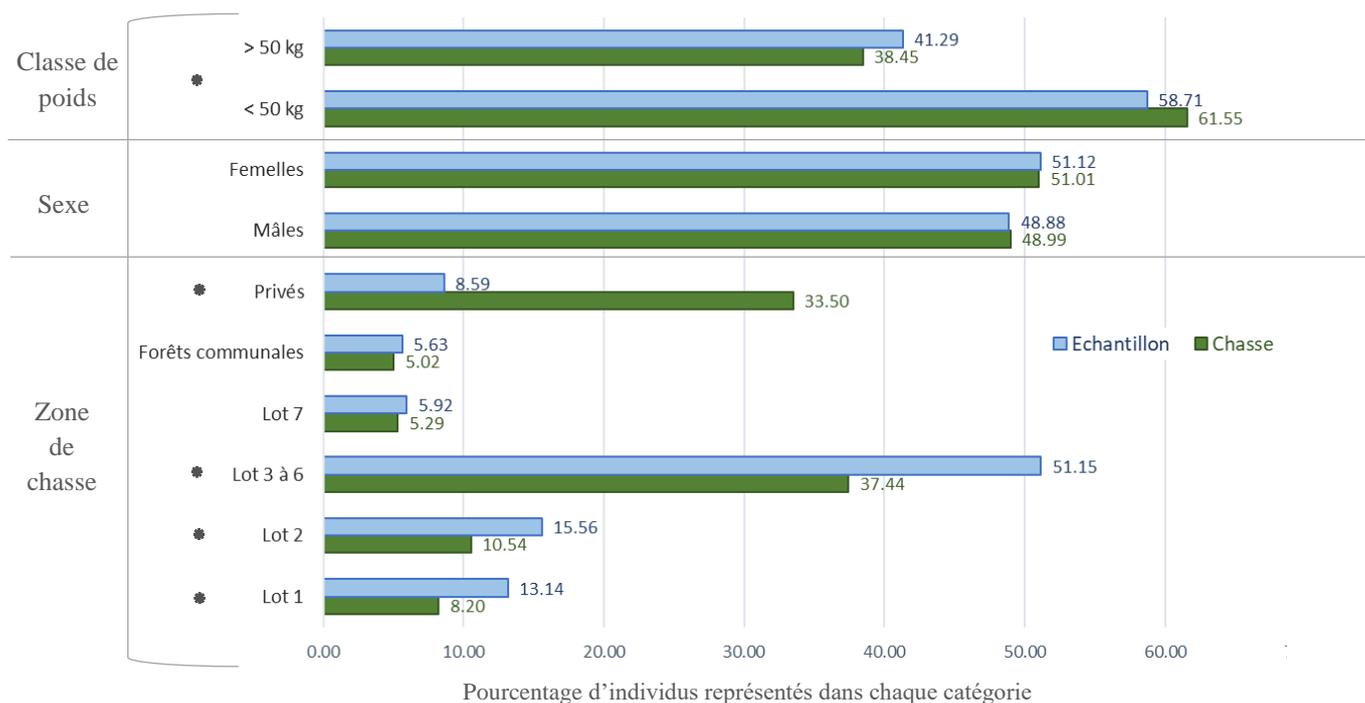


Figure 9 - Distribution comparée des variables d'intérêt entre population chassée et échantillonnée, cumulé de 2005 à 2017. Les étoiles (*) signifient une différence de proportion significative entre échantillon et population chassée (p -value du test de Fisher < 0.5).

III.B.2 - Construction d'un indicateur de prévalence

La sensibilité globale du protocole a évolué au cours de la période d'étude car les tests diagnostiques utilisés ont changé selon les avancées techniques et les connaissances sur le sujet, afin de mieux dépister la tuberculose bovine chez les sangliers (Tableau 9, paragraphe II.A.2). Jusqu'en 2010, tous les individus étaient sujets au même protocole de dépistage, entraînant une excellente sensibilité globale mais un coût financier et en temps d'analyse beaucoup plus important, d'autant plus que les organes étaient traités individuellement. Le traitement par pool des organes de 2011 à 2012 a réduit le coût des analyses mais aussi la sensibilité, bien que la distinction préalable des individus présentant ou non des lésions à partir de 2011 a permis d'améliorer l'efficacité en ciblant les méthodes plus sensibles sur la catégorie à risque des animaux à lésions. A partir de 2013, l'utilisation de la PCR en parallèle de la culture sur les organes à lésions a permis d'améliorer la sensibilité et surtout la rapidité du dépistage en cas de résultat PCR positif (2 jours au lieu de 2 semaines à 2 mois pour la culture).

A partir des performances du diagnostic, du poids d'échantillonnage par zones et de la prévalence mesurée dans l'échantillon dont les données de localisation sont renseignées, une prévalence ajustée ainsi que son intervalle de confiance à 95% (IC95%) ont pu être calculés pour chaque saison de chasse entre 2005 et 2016 (Figure 10). Des écarts significatifs entre les deux prévalences ont pu être observés jusqu'à 2008, mais à partir de 2009 les deux valeurs ont semblé se confondre. L'écart le plus important observé en 2007 a pu être imputé au nombre important de données manquantes cette année-là, déséquilibrant la structure par zones du reste de l'échantillon et modifiant ainsi les pondérations dans la correction de prévalence.

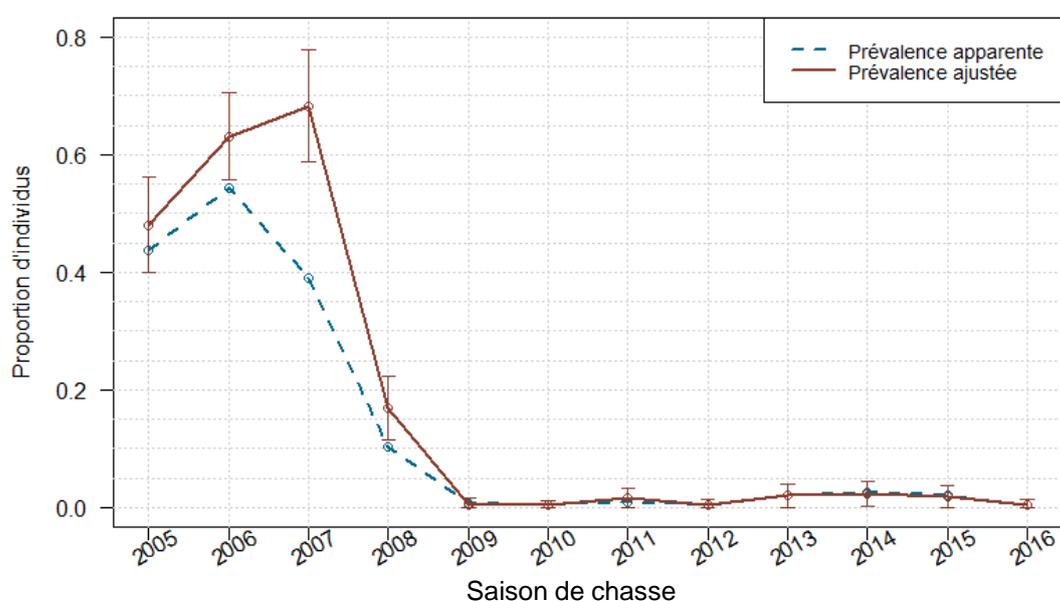


Figure 10 - Evolution comparée de la prévalence apparente et de la prévalence ajustée par la sensibilité et le poids d'échantillonnage par zones

III.B.3 - Performance du système de surveillance

III.B.3.a - Optimisation de la surveillance par la détection des lésions

La comparaison graphique de l'évolution de la proportion d'individus porteurs de lésions et d'individus diagnostiqués infectés a montré une relative concordance de ces deux estimations (Figure 11, courbe points-tirets bleue et courbe trait plein rouge), sauf sur la période 2008-2011 où la proportion d'individus à lésions s'est montrée bien supérieure à celle des individus infectés. Ce pic a pu être observé en moindre mesure en 2010 pour les porteurs de lésions actives (caséo-purulentes, Figure 11 courbe tirets verts). Ainsi pour les lésions de tous types le test de corrélation de Spearman appliqué à toute la période d'étude a montré une absence de corrélation avec l'infection, tandis qu'elle a été significative et très forte ($\rho = 0.9524$, $p\text{-value} = 0.0011$) si la période 2008-2011 n'est pas considérée. Concernant les lésions actives, le résultat était similaire avec une absence de corrélation avec l'infection sur l'ensemble de la période, mais une corrélation significative et forte ($\rho = 0.7909$, $p\text{-value} = 0.0061$) sans l'année 2010. Graphiquement, et sans regarder le pic de 2008 à 2011, un changement a pu être observé dans le profil lésionnel de la population entre la première période de chute de prévalence et la deuxième période de persistance à faible bruit. En effet, au début les porteurs de lésions ont été moins nombreux que les infectés par *M. bovis*, tandis qu'à la fin les porteurs de lésions ont été plus nombreux que les infectés (Figure 11 et Tableau 8). Les tests de corrélations avec l'infection appliqués sur ces deux périodes séparées (2005-2007 et 2012-2016) ne se sont pas montrés significatifs pour les lésions de tous types ou actives. Afin de mieux comprendre la cause du pic de lésions en 2008-2011, les courbes d'infectés par d'autres mycobactéries et le protocole de diagnostic ont été affichés en parallèle des précédentes courbes (Figure 11 et Tableau 9). Il est apparu que le pic de lésions observées est synchrone avec l'alternance annuelle des vétérinaires réalisant l'inspection, tandis que le reste du temps l'inspection a été réalisée par un même vétérinaire (A) ayant formé le vétérinaire (F) encore employé en vacances en 2017, ce qui suggère un effet observateur dans la capacité de détection des lésions. Simultanément à ces alternances, les mycobactéries autres que *M. bovis* ont été identifiées en plus grand nombre dans les prélèvements, en particulier des mycobactéries atypiques.

En conséquence de ces évolutions de protocole et de situation épidémiologique, il a pu être suspecté que les valeurs prédictives positives de l'observation de lésions soient variables au cours du temps (Tableau 9). De façon semblable aux tests de corrélation entre lésions et infection, elles se sont montrées bien meilleures avant 2008. Les individus à lésions sont donc pour près de 90% d'entre eux infectés entre 2005 et 2007. En revanche de 2013 à 2016 une baisse de cette valeur à 42% a pu être observée, les individus à lésions étant majoritairement non infectés par *M. bovis* (Tableau 8). Le dépistage des lésions de tous types s'est cependant montré utile pour cibler le diagnostic de laboratoire le plus sensible à partir de 2013 (Tableau 9), les individus infectés ayant tous présenté des lésions à l'inspection de leurs organes (Tableau 8).

Tableau 8 - Evolution des effectifs d'individus porteurs de lésions et infectés au cours de la période d'étude

Effectifs	Saison	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Infectés	Sans lésion	24	23	4	5	0	0	2	0	0	0	0	0
	Avec lésions	38	30	8	14	1	1	0	0	4	5	3	1
	dont lésions actives	27	26	8	7	1	1	0	0	3	2	2	0
Non infectés	Sans lésion	74	59	45	113	80	125	164	172	177	187	174	176
	Avec lésions	6	0	0	25	61	82	30	4	6	6	6	8
	dont lésions actives	3	0	0	3	4	39	9	2	2	0	2	1

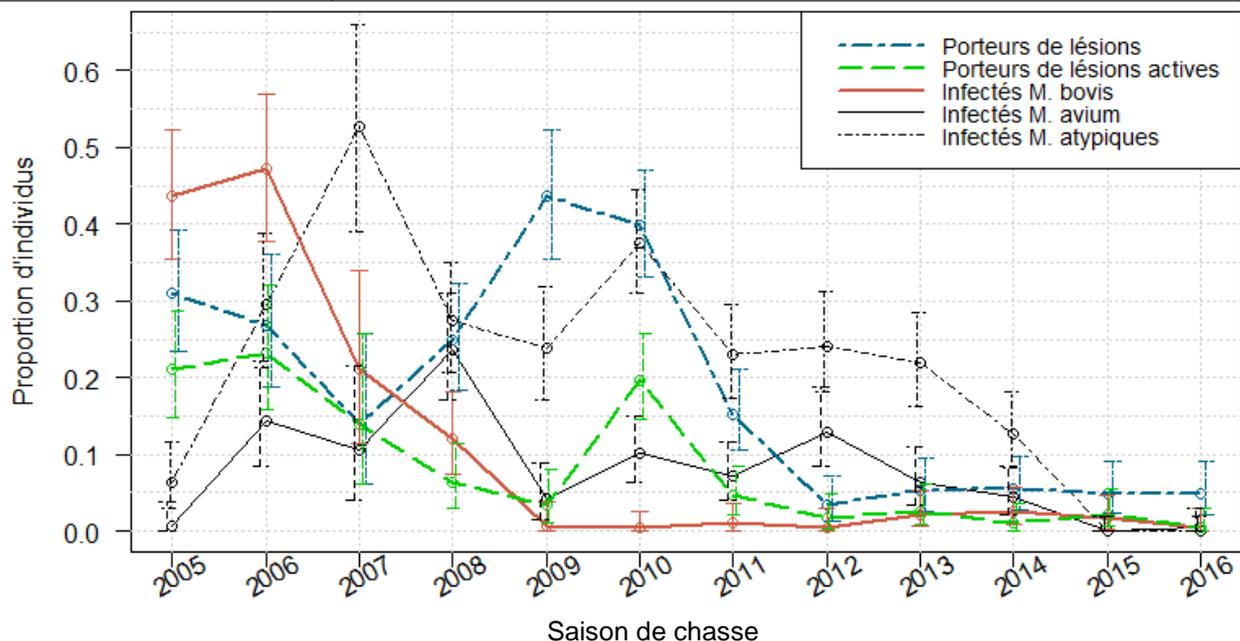


Figure 11 - Evolution comparée des proportions de porteurs de lésions et d'infectés par des mycobactéries

Tableau 9 - Evolution du protocole de prélèvement et de diagnostic de laboratoire, des sensibilités individuelles du diagnostic et des valeurs prédictives positives de l'observation de lésions au cours de la période d'étude

GR = Nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires ; GPM = Nœuds lymphatiques pulmonaires ; GM = Nœuds lymphatiques mésentériques ; GSAL = Nœuds lymphatiques mandibulaires (voir Annexe 7 Figure 20 pour l'anatomie) ; 73 = LAVD de Haute Savoie ; 67 = LAVD du Bas Rhin ; 76 = LAVD de Seine Maritime ; MB = mycobactéries ; MTC = mycobactéries du complexe tuberculosis ; Se = Sensibilité ; Sp = Spécificité.

Saison de chasse		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Vétérinaire chargé de l'inspection		A			B	C	D	E	F				
Organes systématiquement prélevés		GR ; GPM ; GM			Idem + GSAL	GR ; GPM ; GM		GR ; GPM		GR			
LAVD chargé du dépistage		73 + 67	73 + 76					76					
Méthodes de dépistage (LAVD)	Organes sains	Culture MB (individuel) Se = 0.658						Culture MB (pool) Se = 0.508		Culture MB (individuel) Se = 0.658		PCR MTC (broyat) Se = 0.7445	
	Organes à lésions							Culture MB (individuel) Se = 0.658		PCR MTC (broyat) Se = 0.7445 + Culture MB (individuel) Se = 0.658			
Méthodes de confirmation et d'identification (LNR)		PCR discriminante en série (souches et broyat) Se = 0.9 Sp = 1											
Sensibilité du diagnostic	Individus sans lésions	0.864		0.888	0.864		0.457		0.592		0.670		
	Individus à lésions	0.864		0.888	0.864		0.749		0.821				
Valeur prédictive positive de l'observation de lésions		0.891		0.375	0.019	0.013	0	0.121	0.425				

III.B.3.b - Evaluation de la puissance de détection du système actuel

La probabilité de ne pas détecter de cas infecté sous l'hypothèse d'une prévalence réelle de 1% à 3% était toujours inférieure à 20% dans le massif de Brotonne (Tableau 10). La confiance accordée au statut indemne de la population en cas de non détection de l'infection serait donc supérieure à 80%, et jusqu'à 99-100% selon la sensibilité du protocole si le seuil de ce statut est fixé à 3% de prévalence (seuil classiquement retenu par Sylvatub). Quelle que soit la prévalence fixée dans le scénario, les probabilités de non détection de cette prévalence seraient 1,3 à 4,2 fois supérieures en Côte d'Or par rapport à Brotonne (Tableau 10). Cela signifie que, pour les conditions d'échantillonnages actuelles, la confiance accordée dans le statut indemne de tuberculose de la population chassée serait plus grande en forêt de Brotonne en comparaison des zones infectées de la Côte d'Or où l'échantillon est plus dilué. Selon ces estimations à Brotonne, la prévalence minimale détectable avec une confiance de 95% serait donc de 2%, et non 3% comme estimé avec le protocole de dépistage établi en 2005.

Tableau 10 - Puissance de détection du programme de surveillance de la tuberculose bovine chez les sangliers, comparée entre Brotonne et Côte d'Or.
Méthode hypergéométrique pour Brotonne, méthode binomiale pour Côte d'Or.

Territoire		Brotonne			Côte d'Or		
Echantillonnage		200 / 400 (50%)			200 / 1500 (13%)		
Prévalence fixée		3%	2%	1%	3%	2%	1%
Probabilité de ne pas détecter d'individu infecté	Se maximale (0.821)	0.0016	0.0141	0.1199	0.0068	0.0365	0.1923
	Se minimale (0.670)	0.0072	0.0376	0.1948	0.0172	0.0673	0.2607

III.C - Discussion

III.C.1 - Limites liées à l'échantillon chassé et au sous-échantillon étudié

L'étude de la représentativité de l'échantillonnage montre une limite majeure bien connue dans la faune sauvage, à savoir que la population totale, cible de l'étude, est inconnue. Les inférences directes des résultats de l'étude à la population cible sont impossibles à partir des échantillonnages effectués, car la chasse amène forcément un biais de sélection dans l'échantillon (Nusser et al. 2008), et ce biais ne peut pas être quantifié pour chaque facteur de risque en vue de corriger les calculs de prévalence (Martin, Cameron, Greiner 2007). Seules les inférences à la population chassée sont donc possibles dans cette situation, en corrigeant les déséquilibres de représentation par le poids d'échantillonnage pour les différentes catégories.

Si des corrections sont possibles, les déséquilibres de représentation entre l'échantillon et la population chassée sont tout de même à éviter, car ils affectent également la puissance de détection de l'infection dans chacune des catégories considérées au sein de la population cible. Ainsi, il est conseillé de veiller à conserver voire sur-représenter les proportions de catégories les plus à risque dans la population chassée, à savoir les animaux de plus d'un an et les différentes zones d'étude. Sur la saison de chasse 2017, les individus de plus d'un an étaient plus de 40% dans l'échantillon, ce qui constitue une part minimale pour détecter efficacement l'infection. Au cours de la période d'étude il semble que la répartition par classe d'âge dans l'échantillon ait suivi globalement celle de la population chassée, variant donc probablement selon les consignes de chasse, et il faudrait donc insister sur la sélection préférentielle d'individus plus âgés afin d'atteindre l'objectif de 50% échantillonnés (objectif simple à évaluer sur le terrain). En ce qui concerne la représentation des différentes zones, un rééquilibrage est nécessaire dans le but de mieux comprendre la répartition spatiale de l'infection et de mieux détecter l'infection dans certaines zones à risque identifiées, en particulier les secteurs privés en périphérie de massif dans l'Eure, peu inspectés depuis le début (*Rapports d'enquête annuels 2002-2017*).

III.C.2 - Performance de détection du dépistage basé sur les lésions en fonction du niveau de prévalence

Avant 2013, les tests appliqués étant les mêmes sur les organes avec ou sans lésions, l'intérêt de l'inspection pour le dépistage de l'infection était moindre. En effet, de nombreux individus infectés ne présentaient pas de lésions, et la majorité des lésions détectées se trouvaient dans les nœuds lymphatiques systématiquement prélevés. L'inspection permettait de caractériser le profil lésionnel de la maladie et donc apportait une information épidémiopathologique, tandis que le dépistage uniforme de toute la population a permis d'apporter une bonne sensibilité au protocole. A partir de 2011 où la présence de lésions suspectes implique un protocole de diagnostic plus sensible, l'importance de la recherche de lésions préalable à l'analyse en laboratoire est claire, permettant d'améliorer à moindre coût l'efficacité du dépistage.

La valeur prédictive positive de la présence de lésions chute à partir de la saison de chasse 2008 et particulièrement entre 2009 et 2011, les lésions sont donc moins spécifiques de l'infection qu'avant, résultat classique en cas de baisse de la prévalence de la tuberculose dans une population de sangliers (McInerney, Small, Caley 1995). Le pic de lésions rapportées entre 2008 et 2011 correspond à une période d'alternance annuelle de vétérinaires à l'étape de l'inspection des carcasses. Cette concomitance suggère une possible variation du niveau d'expertise des vétérinaires sur cette période, certains n'ayant peut-être pas été suffisamment formés et restrictifs sur le type de lésions à cibler (effet observateur). L'observation au cours de cette même période d'une proportion importante d'individus infectés par d'autres mycobactéries que *M. bovis* suggère aussi la possibilité d'un pic d'infections par d'autres microorganismes provoquant des lésions évocatrices de tuberculose, ce qui pourrait constituer une autre explication épidémiologique (non exclusive de

l'effet observateur) au pic de lésions observé. A partir de 2011, une faible valeur prédictive positive des lésions persiste, révélant un fond d'infections concomitantes (non détectées par les identifications de laboratoire devenues plus spécifiques) ou bien une modification de profil lésionnel de la maladie avec la baisse de sa circulation. Il pourrait en effet y avoir des infectés chez qui les réactions immunitaires ont altéré la détectabilité de la bactérie dans les lésions, comme le suggérait déjà l'étude réalisée à Brotonne sur la saison 2005 (Zanella, Duvauchelle, et al. 2008) et comme l'indiquerait la moindre proportion de lésions actives parmi les lésions présentes. La transmission de ces très faibles quantités de bactéries se produirait donc à de rares occasions lors de contacts étroits entre individus d'une même compagnie, éventuellement favorisée par une baisse d'immunité temporaire (gestation, co-infections...) laissant se réactiver les rares lésions présentes chez les infectés. Cependant, cette valeur prédictive positive des lésions de 42% entre 2013 et 2016 reste relativement bonne en comparaison d'autres dépistages de la tuberculose, comme par exemple le dosage de l'IFN γ sur bovins dans une situation de faible prévalence qui présente une valeur prédictive positive de seulement 10% (Desvaux et al. 2015).

Etant donné le contexte actuel de très faible prévalence d'infection, associée à des lésions de très petite taille, dans les nœuds lymphatiques qui sont systématiquement prélevés, la question de l'intérêt d'une inspection de terrain par un vétérinaire se pose. Depuis 2008, les lésions macro et microscopiques observées à la préparation des prélèvements sont signalées et prises en compte par le laboratoire. Cette deuxième inspection est certainement réalisée dans des conditions et avec un matériel d'observation meilleurs que sur le terrain de chasse, ce qui améliorerait la sensibilité de la méthode si elle était réalisée avec le même détail que par le vétérinaire. De plus, l'incision en lamelles des nœuds lymphatiques réalisée par le vétérinaire pour rechercher des lésions de très petite taille rend ces organes inaptés à l'analyse en laboratoire, donc seul l'un des deux nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens est examiné tandis que l'autre est envoyé au laboratoire. Dans les cas où l'infection est latéralisée du côté de l'inspection, la détection au laboratoire pourrait donc ne pas se produire entraînant une sous-estimation de la prévalence. Une évaluation sur le terrain et au laboratoire de ces deux inspections permettrait éventuellement selon le résultat de s'affranchir de l'inspection du vétérinaire qui semble *a priori* la moins efficace au vu du profil lésionnel actuel des individus infectés. Dans d'autres départements, une collecte des têtes à analyser est ainsi organisée par les chasseurs, avec inspection des nœuds lymphatiques par le LAVD. Cependant, les contraintes posées par un éventuel changement d'organisation du système de collecte des prélèvements sont nombreuses : perte de la viande des têtes pour les chasseurs, formation et sensibilisation des différents acteurs du réseau, formation à l'inspection au laboratoire, perte du lien étroit entre chasseurs et réseau de surveillance, entre autres. L'inspection sur le terrain par le vétérinaire, bien que présentant les limites évoquées, reste donc relativement minutieuse et sensible et représente une première phase de dépistage indispensable pour maintenir l'efficacité du protocole actuel.

III.C.3 - Interprétation relative des résultats des tests de laboratoire et des résultats de surveillance annuels dans le contexte de Brotonne

La recherche de mycobactéries du complexe tuberculosis par PCR, bien que décrite comme ayant une bonne sensibilité chez les sangliers (Rivière 2016), semble avoir montré des failles dans le contexte de cette population. En effet, depuis le début de son utilisation systématique sur les organes à lésions en 2013, six individus sur les 15 confirmés infectés par *M. bovis* au LNR à la suite d'une culture positive, se sont révélés négatifs en PCR de dépistage. L'efficacité de la méthode dépend en fait de facteurs multiples comme la contamination des prélèvements ou leur analyse en pool, et la sensibilité n'est qu'une estimation d'experts faite à partir de résultats obtenus chez les bovins (Rivière et al. 2015). Ces résultats soulèvent en tout cas l'importance de conserver un dépistage des lésions sur les nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires et leur mise en culture en parallèle de la PCR.

Au cours des saisons 2014 et 2016, 119 prélèvements de sang ont été obtenus et analysés en sérologie ELISA chez les sangliers, dans le cadre d'une étude préalable à l'utilisation de cette méthode de dépistage à large échelle (Richomme et al. 2014). En effet, cette méthode peu coûteuse et sans biais d'observateur pourrait permettre en outre de surpasser le défaut de détection des animaux ayant éliminé l'infection évoqué précédemment (III.C.2). Cependant, parmi les 119 sérums, aucun positif n'a été identifié, malgré qu'un individu a bien été confirmé infecté par *M. bovis* suite aux tests habituels par culture sur présence de lésions. Le diagnostic sérologique au seuil de 0,5 semble donc peu efficace dans ce contexte, mais le peu d'individus infectés rend difficile une conclusion à ce stade. Les résultats d'analyse pour l'année 2017, encore en cours de réalisation à la rédaction de ce rapport, permettront probablement de mieux évaluer l'efficacité du test sérologique chez les sangliers du massif de Brotonne.

Malgré les quelques déficiences soulignées, le système de surveillance de la tuberculose chez les sangliers dans le massif de Brotonne-Mauny semble relativement efficace en comparaison de celui appliqué en Côte d'Or défini sur la base du protocole Sylvatub. Ainsi sur le territoire de Brotonne il serait possible de détecter une infection qui passerait peut-être inaperçue ailleurs avec des protocoles d'échantillonnage plus légers. D'autant plus qu'on fait l'hypothèse dans les calculs d'échantillonnage que la distribution des cas est homogène dans l'espace, ce qui est certainement proche de la réalité dans les 8200 ha du massif de Brotonne, mais serait faux dans de larges territoires comme la Côte d'Or. En effet la population de sangliers y est répartie sur différents massifs forestiers, et la circulation de différents spoligotypes de *M. bovis* renforce l'hypothèse d'une situation épidémiologique plus complexe. La puissance du système évaluée sur ce territoire est donc moindre en réalité, et un calcul d'échantillonnage par massifs forestiers ou unités de population serait plus pertinent pour détecter efficacement la tuberculose bovine dans le futur. Une réévaluation du seuil usuel de 3% de prévalence minimale pour le statut indemne d'un territoire serait également à étudier au regard des

résultats obtenus dans cette étude, puisqu'il est montré que l'infection dans ce contexte persiste de nombreuses années dans la population de sangliers en-dessous de 3% de prévalence corrigée.

Les calculs de puissance effectués ont pris en compte de nombreuses simplifications et approximations à chaque étape du protocole. Une méthode plus appropriée mais plus longue à réaliser, basée sur des arbres de scénarios (Rivière et al. 2015), a été envisagée afin de moduler dans les scénarios chacune des étapes du protocole et ainsi évaluer individuellement leur efficacité. Un arbre de scénario dans le contexte étudié a été proposé (Annexe 6 Figure 19), cependant le temps a manqué en fin de stage pour aller jusqu'au bout de l'application de la méthode.

III.D - Conclusion

Les inférences des résultats présentés à l'ensemble de la population de sangliers du massif est impossible. En effet, cette population est de structure et d'effectif inconnus, et seule une comparaison avec la population sélectionnée par la chasse est possible au vu de l'état de connaissance de relatif à la pression de chasse sur cette population. Les déséquilibres de l'échantillonnage identifiés montrent de potentielles sous-détections dans certaines catégories d'individus, en particulier certaines zones de chasse. Afin de détecter plus efficacement l'infection dont la prévalence est faible ces dernières années, un objectif de 50% d'individus de plus d'un an échantillonnés est proposé (un peu plus que les 40% lors de la saison 2017, et facile à évaluer sur le terrain), ainsi qu'une représentation plus importante des zones de chasse en périphérie du massif. Une accentuation de la sélection d'individus plus âgés dans l'échantillon par rapport à la population chassée amènerait à corriger la prévalence apparente par le poids d'échantillonnage de la catégorie d'âge en plus de celui de la localisation.

La sensibilité individuelle du protocole de surveillance à Brotonne est globalement bonne de 2005 à 2016, mais a connu des variations au fur et à mesure des adaptations de protocole. La moindre sensibilité de la culture bactérienne appliquée jusqu'en 2012 a été compensée par le nombre plus important d'organes analysés pour chaque individu, associé probablement à un contexte épidémiologique favorable à la survie des mycobactéries dans les organes (lésions peu calcifiées). A partir de la saison 2013, seuls les nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires ont été systématiquement prélevés, mais ce ciblage des analyses a été compensé par la mise en place de la PCR *a priori* plus sensible en dépistage associée à la culture sur les organes à lésions. Ces bonnes sensibilités associées à l'échantillonnage important en forêt de Brotonne permettraient d'avoir une confiance élevée (supérieure à 95%) dans la déclaration du statut indemne au seuil de 2% de sa population de sangliers en cas d'absence de cas de tuberculose identifiés au cours d'une année. En comparaison des territoires du cœur de Côte d'Or habituellement suivis en surveillance programmée selon Sylvatub, le protocole de Brotonne est bien plus puissant pour détecter l'infection chez les sangliers. L'expérience des huit dernières années de surveillance à Brotonne montre néanmoins qu'une saison de chasse

est insuffisante pour attester de la disparition complète de la maladie, qui s'est maintenue dans ce territoire en deçà du seuil de 2% de prévalence apparente.

La méthode proposée pour corriger les prévalences apparentes par la sensibilité du diagnostic et le poids d'échantillonnage est très rarement appliquée en faune sauvage, bien que ce type de population soit dans la majorité des cas échantillonné de façon non équilibrée. Les résultats montrent une estimation supérieure à l'apparence jusqu'en 2008, puis une confusion des deux proportions dans la deuxième phase de l'étude. Même si la méthode appliquée utilise des approximations et n'est pas exactement fidèle à la réalité, elle s'en rapproche certainement plus que les proportions brutes. Les écarts importants ainsi observés en première partie de période montrent que l'utilisation des valeurs brutes de prévalence apparente dans la faune sauvage pour étudier l'épidémiologie d'une maladie peuvent amener à des erreurs de conclusion importantes, d'autant plus si l'inférence est faite à la population générale sans considérer les sélections appliquées lors de l'échantillonnage (chasse puis prélèvements biologiques).

Partie IV - Conclusion générale

Le bilan analytique de l'évolution spatio-temporelle de l'infection par *M. bovis* chez les sangliers en forêt de Brotonne depuis la saison de chasse 2005 montre une structure de la population infectée semblable à celles décrites dans les précédentes études sur ce territoire et ailleurs. Les résultats montrent une infection et des lésions principalement chez les individus âgés de plus d'un an, aucun effet significatif du sexe, et des facteurs géographiques plutôt modérés pouvant traduire une contamination environnementale historique et/ou un impact de la gestion locale des populations. Dans ce contexte, le sanglier a depuis les premières études été considéré comme hôte de liaison de la tuberculose entre les bovins et le reste de la faune sauvage, agissant également comme sentinelle de la maladie. Ce statut s'est vu confirmé par la chute radicale de prévalence apparente après 2008, soit après l'éradication conduite sur le réservoir sauvage que constituait la population de cerfs. Cependant, la persistance de l'infection à bas bruit dans la population de sangliers depuis 2009 pose la question du mode de persistance de cette maladie et de son mode de transmission. La rareté des cas a rendu l'analyse statistique des données difficile sur cette période. Si la présence d'un cycle sauvage autonome est privilégiée, il n'est pas possible d'exclure une source extérieure de contamination, notamment domestique, dans certains secteurs (sud et est du massif). Malgré une bonne sensibilité du protocole des dernières années et un échantillonnage important en effectif (environ la moitié du tableau de chasse du massif), les déséquilibres par zones et âges des prélèvements peuvent encore limiter les capacités de détection dans ce contexte de très faible prévalence. Dans l'état actuel des connaissances, deux hypothèses principales et non exclusives sont donc envisagées pour expliquer la persistance de l'infection chez les sangliers à Brotonne : (i) le maintien d'une faible proportion de compagnies infectées où la mycobactérie circule notamment du fait de femelles âgées, mémoire de l'historique de l'infection et source de contamination récurrente au contact étroit de leur

progéniture ; (ii) l'existence et la persistance dans l'environnement des sangliers d'un ou plusieurs foyers de tuberculose bovine non révélés à ce jour, dans les populations domestiques (ruminants) en particulier.

Afin d'améliorer la puissance de détection du système de surveillance actuel et d'investiguer les hypothèses épidémiologiques soulevées par cette étude et par les rapports annuels de surveillance, des perspectives d'adaptation raisonnables du protocole et des mesures de gestion sont finalement proposées. Au niveau de la sélection des individus à analyser, il est recommandé d'intensifier l'échantillonnage dans les forêts de chasse privées et en particulier dans l'Eure, ainsi que de sélectionner préférentiellement les individus âgés de plus d'un an afin d'en échantillonner *a minima* 50%. La première inspection des carcasses par un vétérinaire, limitée en sensibilité par les conditions et le matériel de terrain et réduisant les capacités de prélèvement, est doublée par une inspection des prélèvements d'organes au laboratoire. Cette double inspection a permis dans le contexte lésionnel récent de détecter des lésions de très petite taille et en faible nombre et d'ainsi cibler un protocole de diagnostic plus sensible, doublant la PCR d'une culture sur les organes à lésions. Le protocole tel que réalisé actuellement est suffisamment sensible pour encore détecter l'infection à un seuil minimal de 2% avec une confiance supérieure à 95%. En ce qui concerne les mesures de gestion, il est proposé de maintenir celles appliquées depuis plusieurs années maintenant, à savoir l'élimination des viscères de gibier, l'arrêt de l'agrainage du gibier, le renforcement des mesures de biosécurité à l'interface entre les élevages de ruminants et la faune sauvage, et l'élimination de la totalité de la population de cerfs. Afin de supprimer les facteurs favorisant une circulation autonome de l'infection au sein de la population de sangliers, et d'éviter une éventuelle augmentation de circulation de l'infection avec possible retour aux hôtes domestiques, un effort supplémentaire et temporaire pourrait être demandé aux chasseurs afin de limiter la densité de population des sangliers et en particulier réduire la protection des lignées matriarcales anciennes, les femelles les plus âgées pouvant héberger et transmettre la bactérie.

Références bibliographiques

- BARONE, R., 1996. *Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 5. Angiologie.* Paris : Vigot.
- BIET, F, BOSCHIROLI, M-L, THOREL, M-F et GUILLOTEAU, L. A., 2005. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex. *Veterinary Research.* Vol. 36, n° 3, pp. 411-436.
- BOUCHEZ-ZACRIA, M, COURCOUL, A, JABERT, P, RICHOMME, C et DURAND, B, 2017. Environmental determinants of the Mycobacterium bovis concomitant infection in cattle and badgers in France. *European Journal of Wildlife Research.* Vol. 63, n° 5.
- CARDOSO-TOSET, F, GÓMEZ-LAGUNA, J, AMARILLA, S. P., VELA, A. I., CARRASCO, L, FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F., ASTORGA, R. J. et LUQUE, I, 2015. Multi-Etiological Nature of Tuberculosis-Like Lesions in Condemned Pigs at the Slaughterhouse. *PLOS ONE.* Vol. 10, n° 9, pp. e0139130.
- CAVALERIE, L, COURCOUL, A, BOSCHIROLI, M-L, RÉVEILLAUD, E et GAY, P, 2014. Tuberculose bovine en France en 2014 : une situation stable. *Bulletin épidémiologique Santé Animale - Alimentation : Spécial Maladies animales réglementées et émergentes. DGAL - Anses.* N° 71, pp. 4-11.
- CLAPP, K. H., 1956. Tuberculosis-like lesions in swine in South Australia. *Australian Veterinary Journal.* Vol. 32, n° 5, pp. 110-113.
- COLEMAN, J. D., JACKSON, R, COOKE, M. M. et GRUEBER, L, 1994. Prevalence and spatial distribution of bovine tuberculosis in brushtail possums on a forest-scrub margin. *New Zealand Veterinary Journal.* Vol. 42, n° 4, pp. 128-132.
- COURTENAY, O, REILLY, L. A, SWEENEY, F. P, HIBBERD, V, BRYAN, S, UL-HASSAN, A, NEWMAN, C, MACDONALD, D. W, DELAHAY, R. J, WILSON, G. J et WELLINGTON, E. M. H, 2006. Is Mycobacterium bovis in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis? *Biology Letters.* Vol. 2, n° 3, pp. 460-462.
- DE LISLE, G.W., MACKINTOSH, C.G. et BENGIS, R.G., 2001. Mycobacterium bovis in free-living and captive wildlife, including farmed deer. *Revue scientifique et technique OIE.* Vol. 20, n° 1, pp. 86-111.
- DE MONCUIT, Clara, 2017. *Estimation de la densité de Blaireaux en forêt de Brotonne.* Masters Thesis. Caen : Institut Universitaire et Technologique.
- DELAUNE, D, JANVIER, F, RAPP, C, GÉRÔME, P, MÉCHAI, F, FABRE, M, SOLER, C et MÉRENS, A, 2012. Update on Mycobacterium bovis infections in France: 4 cases reports. *Annales de Biologie Clinique.* Vol. 70, n° 2, pp. 231-236.
- DESVAUX, S, SMYEJ, F, GROB, A, BEFORT, J et KECK, N, 2015. 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. *Bulletin épidémiologique Santé Animale - Alimentation : Spécial Maladies animales réglementées et émergentes. DGAL - Anses.* N° 70, pp. 9-13.
- DI MARCO, V, MAZZONE, P, CAPUCCHIO, M. T., BONIOTTI, M. B., ARONICA, V, RUSSO, M, FIASCONARO, M, CIFANI, N, CORNELI, S, BIASIBETTI, E, BIAGETTI, M, PACCIARINI, M. L., CAGIOLA, M, PASQUALI, P et MARIANELLI, C, 2012. Epidemiological Significance of the Domestic Black Pig (Sus scrofa) in Maintenance of Bovine Tuberculosis in Sicily. *Journal of Clinical Microbiology.* Vol. 50, n° 4, pp. 1209-1218.

- DOHOO, I, MARTIN, W et STRYHN, H, 2009. *Veterinary Epidemiologic Research*. VER Inc.
- DOMINGO, M, VIDAL, E et MARCO, A, 2014. Pathology of bovine tuberculosis. *Research in Veterinary Science*. Vol. 97, pp. 20-29.
- DUFOUR, B, BÉNET, J-J, BOSCHIROLI, M-L, GANIÈRE, J-P, GARIN-BASTUJI, B, HARS, J, LESELLIER, S, MILLEMAN, Y, MOUTOU, F, PAYNE, A, RICHOMME, C et RUETTE, S, 2011. *Tuberculose bovine et faune sauvage*. Anses.
- DUFOUR, B et BÉNET, J-J, 2015. L'infection à *Mycobacterium bovis* en France en 2014 : recrudescence et inquiétudes. *Revue Francophone des Laboratoires*. Vol. 2015, n° 472, pp. 67-75.
- FROMONT, E et ROSSI, S, 2000. Échantillonnage en faune sauvage : quelques questions sur la taille d'échantillon. *Épidémiologie et Santé Animale*. Vol. 37, pp. 11-19.
- GORMLEY, E et CORNER, L. A. L., 2013. Control Strategies for Wildlife Tuberculosis in Ireland. *Transboundary and Emerging Diseases*. Vol. 60, pp. 128-135.
- GORTÁZAR, C, DELAHAY, R. J., MCDONALD, R. A., BOADELLA, M, WILSON, G. J., GAVIER-WIDEN, D et ACEVEDO, P, 2012. The status of tuberculosis in European wild mammals. *Mammal Review*. Vol. 42, n° 3, pp. 193-206.
- GORTAZAR, C, VICENTE, J, DE LA FUENTE, J, NUGENT, G et NOL, P, 2015. Tuberculosis in Pigs and Wild Boar. In : *Tuberculosis, leprosy and other mycobacterial diseases of man and animals: the many hosts of mycobacteria*. CAB International. pp. 313-324.
- HARS, J, RICHOMME, C, PAYNE, A et BOSCHIROLI, M-L, 2011. Faune sauvage et tuberculose bovine en France. *Faune Sauvage*. Vol. 290, pp. 50-51.
- HARS, J, LAMBERT, S, MOYEN, J-L, GARES, H, VIAU, A, SALVAUDON, M, BOSCHIROLI, M-L et RICHOMME, C, 2016. Étude épidémiologique sur la tuberculose bovine chez le Chevreuil (*Capreolus capreolus*) en Dordogne. *Bulletin Épidémiologique Santé Animale et Alimentation - DGAL - Anses*. Vol. 74, pp. 12-14.
- LAMARQUE, F, HATIER, C, ARTOIS, M et BERNY, P, 2000. Le réseau SAGIR, réseau national de suivi sanitaire de la faune sauvage française. *Épidémiologie et Santé Animale*. Vol. 37, pp. 21-30.
- LEPESQUEUX, G, MAILLES, A, AUBRY, A, VEZIRIS, N, JAFFRÉ, J, JARLIER, V et ROBERT, J, 2018. Épidémiologie des cas de tuberculose à *Mycobacterium bovis* diagnostiqués en France. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Vol. 48, n° 4, pp. S115-S116.
- MADDOCK, E. C. G., 1933. Studies on the Survival Time of the Bovine Tubercle Bacillus in Soil, Soil and Dung, in Dung and on Grass, with Experiments on the Preliminary Treatment of Infected Organic Matter and the Cultivation of the Organism. *Journal of Hygiene*. Vol. 33, n° 01, pp. 103-117.
- MAEDER, S, 2007. *Etude de la tuberculose chez le sanglier (Sus scofra), réservoir de la tuberculose bovine ? Enquête épidémiologique 2006 – 2007, en forêt de Brotonne – Mauny (76)*. Thèse d'exercice vétérinaire. Maison-Alfort : ENVA.
- MARTIN, P. A. J., CAMERON, A. R. et GREINER, M., 2007. Demonstrating freedom from disease using multiple complex data sources. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 79, n° 2-4, pp. 71-97.
- MCINERNEY, J, SMALL, K et CALEY, P, 1995. Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal*. Vol. 72, n° 12, pp. 448-451.

- MCKENZIE, R. A. et DONALD, B. A., 1979. Lymphadenitis in cattle associated with *Corynebacterium equi*: A problem in bovine tuberculosis diagnosis. *Journal of Comparative Pathology*. Vol. 89, n° 1, pp. 31-38.
- NIGSCH, A, LUGINBÜHL, A, BRINER, A et SUTER, D, 2014. *Manuel de dépistage de la tuberculose bovine : Anomalies décelables lors du contrôle des viandes*. Office Fédéral de la Sécurité Alimentaire et des Affaires Vétérinaires (OSAV) de Suisse.
- NIGSCH, A, RYSER, M-P, HENSCHER, A, SCHNEEBERGER, D, SUTER, D et JAKOB, P, 2014. *Manuel de dépistage de la tuberculose dans le gibier : Anomalies décelables à l'examen des carcasses de gibier*. Office Fédéral de la Sécurité Alimentaire et des Affaires Vétérinaires (OSAV) de Suisse.
- Note de service DGAL/SDSPA/2015-556 du 26 juin 2015 relative aux modalités techniques du dispositif Sylvatub*, 2015. DGAL.
- NUGENT, G, GORTAZAR, C et KNOWLES, G, 2015. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* in wild deer and feral pigs and their roles in the establishment and spread of bovine tuberculosis in New Zealand wildlife. *New Zealand Veterinary Journal*. Vol. 63, n° sup1, pp. 54-67.
- NUSSER, S. M., CLARK, W. R., OTIS, D. L. et HUANG, L, 2008. Sampling Considerations for Disease Surveillance in Wildlife Populations. *Journal of Wildlife Management*. Vol. 72, n° 1, pp. 52-60.
- O'BRIEN, D. J., SCHMITT, S. M., FIERKE, J. S., HOGLE, S. A., WINTERSTEIN, S. R., COOLEY, T. M., MORITZ, W. E., DIEGEL, K. L., FITZGERALD, S. D., BERRY, D. E. et KANEENE, J. B., 2002. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995–2000. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 54, n° 1, pp. 47-63.
- OIE, 2012. Bovine Tuberculosis. In : *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. pp. Chapitre 2.4.6.
- PAYNE, A, BOSCHIROLI, M-L, GUENEAU, E, MOYEN, J-L, RAMBAUD, T, DUFOUR, B, GILOT-FROMONT, E et HARS, J, 2013. Bovine tuberculosis in “Eurasian” badgers (*Meles meles*) in France. *European Journal of Wildlife Research*. Vol. 59, n° 3, pp. 331-339.
- PAYNE, A, 2014. *Rôle de la faune sauvage dans le système multi-hôtes de Mycobacterium bovis et risque de transmission entre faune sauvage et bovins : étude expérimentale en Côte d'Or*. PhD Thesis. Université Claude Bernard-Lyon I.
- PESCIAROLI, M, ALVAREZ, J, BONIOTTI, M. B., CAGIOLA, M, DI MARCO, V, MARIANELLI, C, PACCIARINI, M et PASQUALI, P, 2014. Tuberculosis in domestic animal species. *Research in Veterinary Science*. Vol. 97, pp. S78-S85.
- PRAUD, A et BÉNET, J-J, 2017. La tuberculose animale. In : *Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises*. Mérial. Lyon. pp. 100.
- Rapports d'enquête annuels - Programme de surveillance de la tuberculose bovine chez les animaux sauvages de la forêt de Brotonne, 2002-2017*. DGAL, ONCFS, Anses.
- RICHOMME, C, BOADELLA, M, COURCOUL, A, DURAND, B, DRAPEAU, A, CORDE, Y, HARS, J, PAYNE, A, FEDIAEVSKY, A et BOSCHIROLI, M-L, 2013. Exposure of Wild Boar to *Mycobacterium tuberculosis* complex in France since 2000 is consistent with the distribution of Bovine Tuberculosis outbreaks in cattle. *PLOS ONE*. Vol. 8, n° 10, pp. e77842.

RICHOMME, C, BOADELLA, M, COURCOUL, A, DURAND, B, DRAPEAU, A, CORDE, Y, HARS, J, PAYNE, A, FEDIAEVSKY, A et BOSCHIROLI, M-L, 2014. Utilisation d'un outil sérologique pour estimer l'exposition des sangliers à *M. bovis*. *Épidémiologie et Santé Animale*. Vol. 65, pp. 151-161.

RIVIÈRE, J, FAURE, E, HENDRIKX, P et FEDIAEVSKY, A, 2013. Sylvatub : bilan d'une première année de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. *Bulletin épidémiologique Santé Animale - Alimentation : Spécial Maladies animales réglementées et émergentes. DGAL - Anses*. Vol. 57, pp. 10-15.

RIVIÈRE, J, LE STRAT, Y, DUFOUR, B et HENDRIKX, P, 2015. Sensitivity of Bovine Tuberculosis Surveillance in Wildlife in France: A Scenario Tree Approach. *PLOS ONE*. Vol. 10, n° 10, pp. e0141884.

RIVIÈRE, J, LE STRAT, Y, HENDRIKX, P et DUFOUR, B, 2017. Cost-effectiveness evaluation of bovine tuberculosis surveillance in wildlife in France (Sylvatub system) using scenario trees. *PLOS ONE*. Vol. 12, n° 8, pp. e0183126.

RIVIÈRE, J, 2016. *Evaluation du dispositif de surveillance de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France à l'aide de méthodes épidémiologique, économique et sociologique*. PhD Thesis. Université Paris-Saclay.

SANTOS, N, CORREIA-NEVES, M, ALMEIDA, V et GORTÁZAR, C, 2012. Wildlife tuberculosis: a systematic review of the epidemiology in Iberian Peninsula. In : *Epidemiology Insights*. InTech.

SCILLITANI, L, MONACO, A et TOSO, S, 2010. Do intensive drive hunts affect wild boar (*Sus scrofa*) spatial behaviour in Italy? Some evidences and management implications. *European Journal of Wildlife Research*. Vol. 56, n° 3, pp. 307-318.

SERGEANT, E, 2018. Epi Tools - EpiTools epidemiological calculators. Ausvet Pty Ltd. [en ligne]. 2018. [Consulté le 25 mai 2018]. Disponible à l'adresse : <http://epitools.ausvet.com.au>

Tuberculose bovine, 2018. *OIE* [en ligne]. [Consulté le 5 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.oie.int/fr/sante-animale-dans-le-monde/maladies-animales/tuberculose-bovine/#G>

VAYR, F, MARTIN-BLONDEL, G, SAVALL, F, SOULAT, J-M, DEFFONTAINES, G et HERIN, F, 2018. Occupational exposure to human *Mycobacterium bovis* infection: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Vol. 12, n° 1.

VICENTE, J, HÖFLE, U, GARRIDO, J. M., FERNÁNDEZ-DE-MERA, I. G., JUSTE, R, BARRAL, M et GORTAZAR, C, 2006. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Veterinary Research*. Vol. 37, n° 1, pp. 107-119.

ZANELLA, G, BAR-HEN, A, BOSCHIROLI, M-L, HARS, J, MOUTOU, F, GARIN-BASTUJI, B et DURAND, B, 2012. Modelling transmission of Bovine Tuberculosis in Red Deer and Wild Boar in Normandy, France. *Zoonoses and Public Health*. Vol. 59, pp. 170-178.

ZANELLA, G, DURAND, B, HARS, J, MOUTOU, F, GARIN-BASTUJI, B, DUVAUCHELLE, A, FERMÉ, M, KAROU, C et BOSCHIROLI, M-L, 2008. *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases*. Vol. 44, n° 1, pp. 99-108.

ZANELLA, G, DUVAUCHELLE, A, HARS, J, MOUTOU, F, BOSCHIROLI, M-L et DURAND, B, 2008. Patterns of lesions of bovine tuberculosis in wild red deer and wild boar. *Veterinary Record*. Vol. 163, pp. 43-47.

ZANELLA, G, 2007. *Tuberculose bovine dans une population de cerfs et de sangliers sauvages : Epidémiologie et modélisation*. PhD Thesis. Université Paris Sud - Paris XI.

Annexe 1 : Bilan des programmes de surveillance annuelle sur le massif de Brotonne-Mauny, issu des rapports d'enquête annuels

Tableau 11 - Pourcentages d'individus confirmés infectés par M. bovis au Laboratoire National de Référence. (Source Rapports d'enquête annuels 2002-2017)

n : effectif total analysé. Intervalles de confiance à 95% = $p \pm 1,96 \sqrt{[p(1-p)/n]}$.

Saison	2001-2002	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017
Cerfs	14% (n=77)	23% (n=145)	10% (n=144)	23% (n=44)	1 ind. (n=19)	2 ind. (n=20)	0 (n=8)	0 (n=5)	0 (n=3)	0 (n=2)	0 (n=2)	-	-
Sangliers	28% (n=84)	37% (n=155)	31% (n=255)	19% (n=199)	11% (n=200)	0,7% (n=150)	0,45% (n=220)	1% (n=200)	0,48% (n=205)	2,5% (n=200)	2,34% (n=210)	2,01% (n=199)	0,5% (n=199)
Chevreaux	0 (n=38)	1 ind. (n=53)	0 (n=59)	0 (n=53)	0 (n=48)	0 (n=61)	0 (n=113)	0 (n=99)	0 (n=67)	0 (n=59)	0 (n=58)	0 (n=70)	0 (n=75)
Renards	-	1 ind. (n=48)	-	0 (n=14)	0 (n=21)	0 (n=27)	0 (n=52)	0 (n=7)	0 (n=5)	-	0 (n=4)	-	-
Blaireaux	0 (n=30)	1 ind. (n=55)	-	0 (n=53)	0 (n=22)	0 (n=15)	0 (n=38)	0 (n=3)	0 (n=4)	0 (n=17)	0 (n=12)	0 (n=2)	0 (n=20)

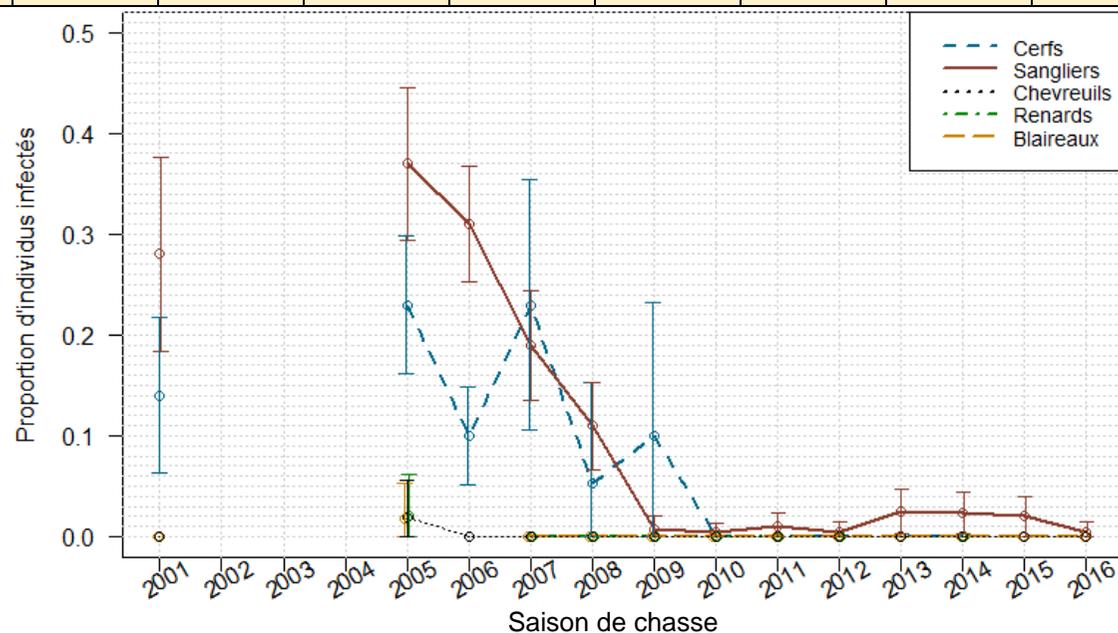


Figure 12 - Evolution des proportions apparentes d'infectés parmi les différentes espèces surveillées au cours du temps

Annexe 2 : Extrait du tableau de données recomposé

Tableau 12 - Extrait du tableau de données recomposé

73 : LAVD de Haute Savoie ; 67 : LAVD du Bas Rhin ; 76 : LAVD de Seine Maritime ; GR : Nœuds lymphatiques rétro-mandibulaires ; GPM : Nœuds lymphatiques pulmonaires ; GM : Nœuds lymphatiques mésentériques ; GSAL : Nœuds lymphatiques mandibulaires ; MTC : Mycobactérie du complexe tuberculosis.

Scores lésionnels : 1 = calcification, 2 = calcification diffuse (sans caséum), 3 = lésion caséo-calcaire, 4 = caséux, 5 = lésion purulente, 6 = autre lésion (nécrotique, hémorragique, hypertrophie...), 7 = non évalué.

Saison	LAVD	ID BR	ID LAVD	Organes	Lésions présence	Observations	Lésions score	Nb organes	Nb lésions	Nb lésions actives	Culture	PCR	Identification	Spoligotype	Sérologie DO	Sérologie	Infecte	Date chasse	Lieu chasse	Commune	Lot	Zone	Parcelle	Sexe	Poids	Age classe
2006	73	BR-2006/064	SA06.4419	GR. GPM. GM	1	GR caséux	4	4	1	1	1		<i>M. bovis</i>				1		473	la M	6	6	473	F	69	
2007	76	BR-2007/078	SA07.4757	GR. GPM. GM	0		0	4	0	0	0						0		lot 3 à 6 parcelle 501	L	5	5	501	F	48	
2008	73	BR-2009/045	SA08.5601	GR. GPM. GM. SAL	0		0	5	0	0	1		<i>M. avium</i>				0		Lot 2		2	2		M	48	
2009	76	BR-2010/007	SA09.3629	GR. GPM. GM	1	GR6 GPM6	6	4	3	0	1		<i>M. avium</i>				0		Parcelle 29 lot1	la M	1	1	29	M	38	
2010	76	BR-2011/014	SA10.3825	GR. GPM. GM	1	GR6	6	4	1	0	1		<i>M. avium</i>				0		Lot 3 parcelle 148	Vat	3	3	148	F	38	
2011	76	BR-2012/038	SA11.3980	GR. GPM	0		0	3	0	0	1		<i>M. bovis</i>	SB 0134			1		Lot 3 Parcelle 217	Vat	3	3	217	F	28	
2012	76	BR-2013/011	SA12.3848	GR. GPM	0		0	3	0	0	1		<i>M. atypique</i>				0		Notre Dame de Bliquetuit	ND de B	ND de B	P1		M	84	
2013	76	BR-2014/009	SA13.2839	GR	0		0	1	0	0	1	0	<i>M. terrae</i>				0		Vatteville	Vat				F	33	
2014	76	BR-2015/019	SA14.3031	GR	0		0	1	0	0	2	0					0		1-29	la M	1	1	29	M	20	
2015	76	BR-2016/082	SA15.3527	GR	0		0	1	0	0	0	1	MTC				2		3-4-5-6-78	Vat	4	4	78	F	46	
2016	76	BR-2017/046	SA16.3156	GR	0		0	1	0	0		1	<i>M. microti</i>		0.047	0	0	28/11/2016	3 - 4 - 5 - 6 - 410	la M	6	6	410	F	45	J

Annexe 3 : Discrimination des classes d'âges en fonction du poids pour les saisons de chasse 2016 et 2017

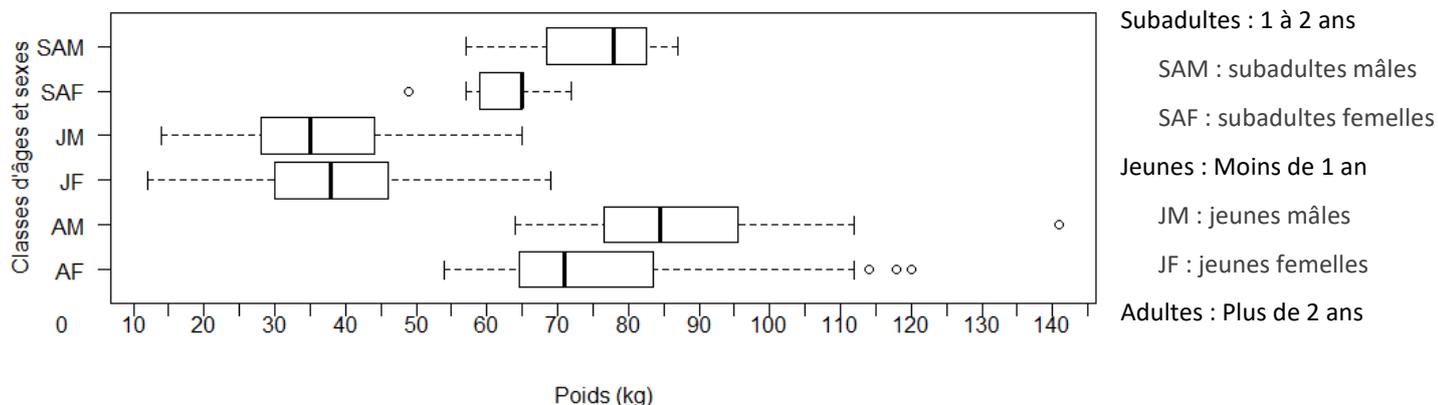


Figure 13 - Distribution statistique du poids par classes d'âge et de sexe

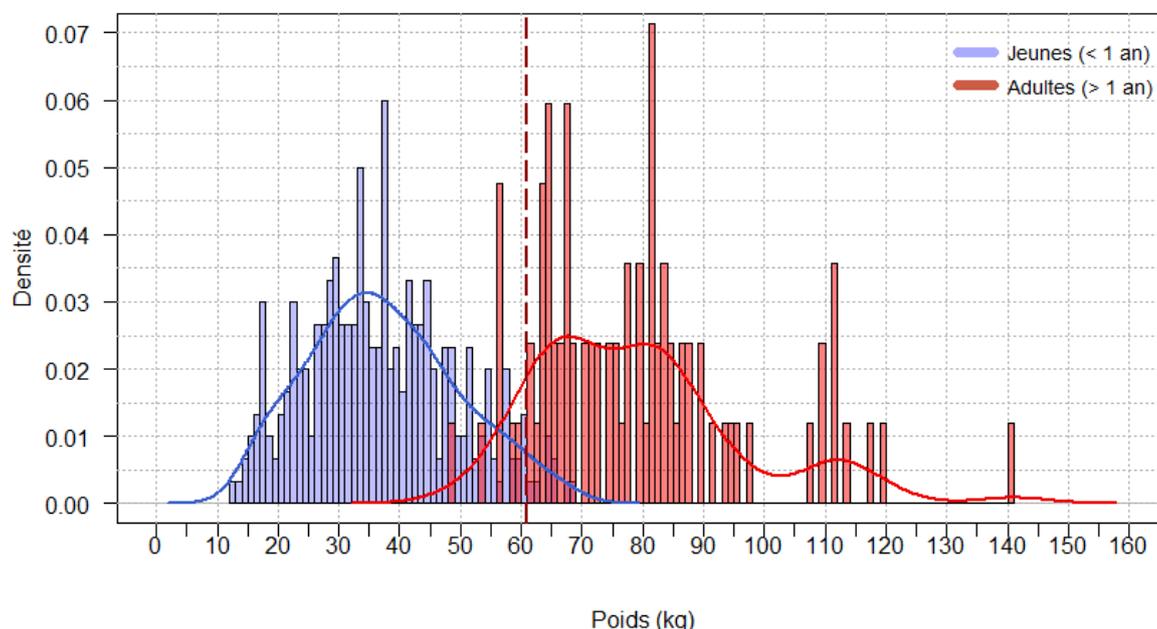


Figure 14 - Densités de poids selon la classe d'âge pour les saisons 2016-2017 et 2017-2018

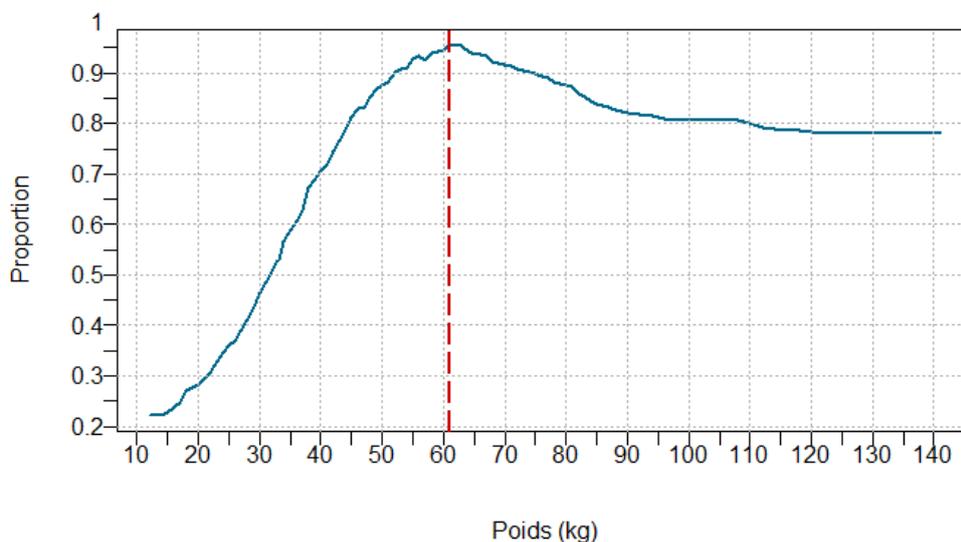


Figure 15 - Proportion de classifications d'âge correctes selon le seuil de poids
 Le seuil optimal de 61kg maximisant cette proportion est figuré en rouge.

Annexe 4 : Tableaux comparatifs des modèles linéaires généralisés de l'infection en fonction de la saison de chasse, de la zone de chasse, de la classe d'âge et des interactions de premier, second et troisième ordre entre ces variables.

Code de numérotation des modèles :

- 1 Infecté ~ Saison:Zone:Age + Saison:Zone + Zone:Age + Saison:Age + Saison + Zone + Age
- 2 Infecté ~ Saison:Zone + Zone:Age + Saison:Age + Saison + Zone + Age
- 3 Infecté ~ Saison:Zone + Saison:Age + Saison + Zone + Age
- 4 Infecté ~ Zone:Age + Saison:Age + Saison + Zone + Age
- 5 Infecté ~ Saison:Zone + Zone:Age + Saison + Zone + Age
- 6 Infecté ~ Saison:Age + Saison + Zone + Age
- 1' Infecté ~ Saison:Zone:Age + Saison:Zone + Zone:Age + Saison:Age + Saison + Zone + Age + Adulte2005
- 2' Infecté ~ Saison:Zone + Zone:Age + Adulte2005 + Saison + Zone + Age
- 3' Infecté ~ Saison:Zone + Adulte2005 + Saison + Zone + Age
- 4' Infecté ~ Zone:Age + Adulte2005 + Saison + Zone + Age
- 6' Infecté ~ Saison + Zone + Age + Adulte2005
- 7' Infecté ~ Zone + Age + Adulte2005
- 8' Infecté ~ Saison + Age + Adulte2005
- 9' Infecté ~ Saison + Zone + Adulte2005

Tableau 13 - Regroupement des zones par adjudicataire et proximité avec des bois privés moins échantillonnés
Lots 3-4-5-6 et lots 1-2-7 regroupés

DF : degrés de liberté ; k : nombre de paramètres ; Dev : déviance au modèle nul ; AIC : indice d'Akaike ; AICweight : probabilité que le modèle soit le meilleur ; pseudo $r^2 = Dev/DevNULL$: part de variabilité des données expliquée par le modèle ; BIC : critère d'information bayésien

Modèle	DF	k	Dev	AIC	dAIC	AICweight	pseudo r^2	BIC
6'	1699.00	7.00	575.05	589.05	0.00	0.55	0.57	627.14
8'	1700.00	6.00	579.21	591.21	2.16	0.18	0.57	623.86
6	1697.00	9.00	574.25	592.25	3.20	0.11	0.57	641.23
3'	1696.00	10.00	573.05	593.05	4.00	0.07	0.56	647.47
4	1696.00	10.00	574.25	594.25	5.20	0.04	0.57	648.67
2'	1695.00	11.00	572.97	594.97	5.92	0.03	0.56	654.83
3	1694.00	12.00	572.45	596.45	7.40	0.01	0.56	661.76
2	1693.00	13.00	572.45	598.45	9.40	0.00	0.56	669.19
1	1690.00	16.00	571.29	603.29	14.24	0.00	0.56	690.36
1'	1690.00	16.00	571.29	603.29	14.24	0.00	0.56	690.36
5	1696.00	10.00	586.38	606.38	17.33	0.00	0.58	660.80
9'	1700.00	6.00	605.91	617.91	28.86	0.00	0.60	650.56
7'	1702.00	4.00	943.54	951.54	362.49	0.00	0.93	973.31
4'	1701.00	5.00	941.82	951.82	362.77	0.00	0.93	979.03

Tableau 14 - Regroupement des zones par proximité avec des foyers bovins identifiés entre 2003 et 2017
Lots 1-3-4-6 et lots 2-5-7 regroupés

Modèle	DF	k	Dev	AIC	dAIC	AICweight	pseudo r^2	BIC
6'	1699.00	7.00	574.91	588.91	0.00	0.37	0.57	627.01
3'	1696.00	10.00	570.45	590.45	1.54	0.17	0.56	644.87
8'	1700.00	6.00	579.21	591.21	2.30	0.12	0.57	623.86
2'	1695.00	11.00	569.32	591.32	2.41	0.11	0.56	651.18
6	1697.00	9.00	574.38	592.38	3.47	0.06	0.57	641.36
4	1696.00	10.00	573.30	593.30	4.39	0.04	0.56	647.72
1	1690.00	16.00	561.54	593.54	4.63	0.04	0.55	680.62
1'	1690.00	16.00	561.54	593.54	4.63	0.04	0.55	680.62
3	1694.00	12.00	569.84	593.84	4.93	0.03	0.56	659.14
2	1693.00	13.00	568.98	594.98	6.07	0.02	0.56	665.72
5	1696.00	10.00	584.57	604.57	15.66	0.00	0.58	658.99
9'	1700.00	6.00	605.07	617.07	28.16	0.00	0.60	649.72
7'	1702.00	4.00	941.60	949.60	360.69	0.00	0.93	971.37
4'	1701.00	5.00	941.29	951.29	362.38	0.00	0.93	978.50

Annexe 5 : Comparaison de structure de l'échantillon par rapport à la population chassée sur la période 2005-2017

Les étoiles (*) indiquent une p-value < 0.05 du test de Fisher entre les deux proportions.

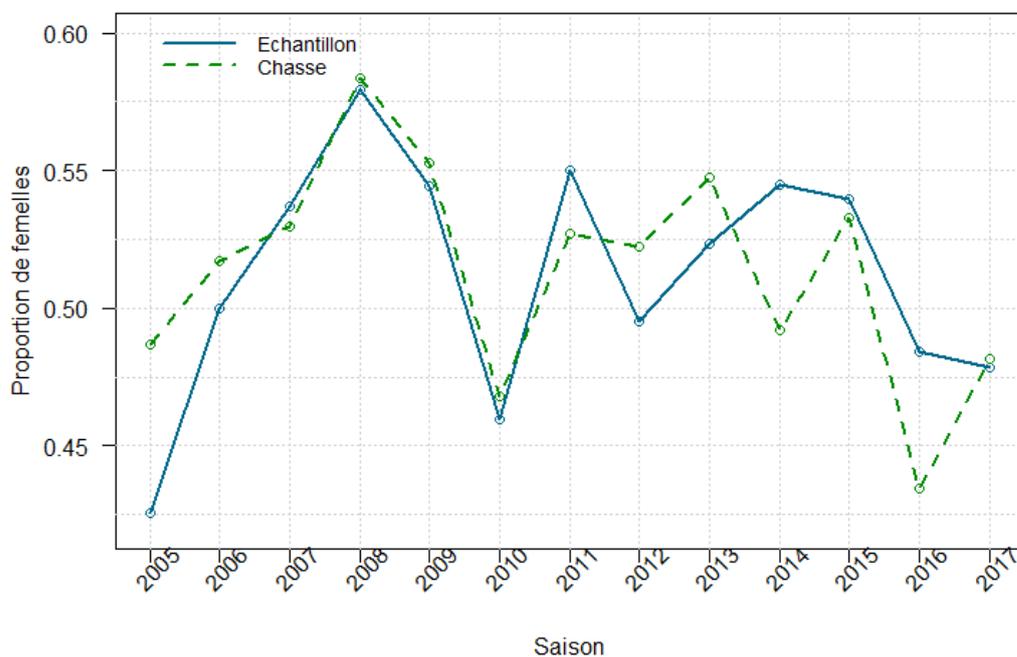


Figure 16 - Evolution comparée de la proportion de femelles dans l'échantillon et la population chassée

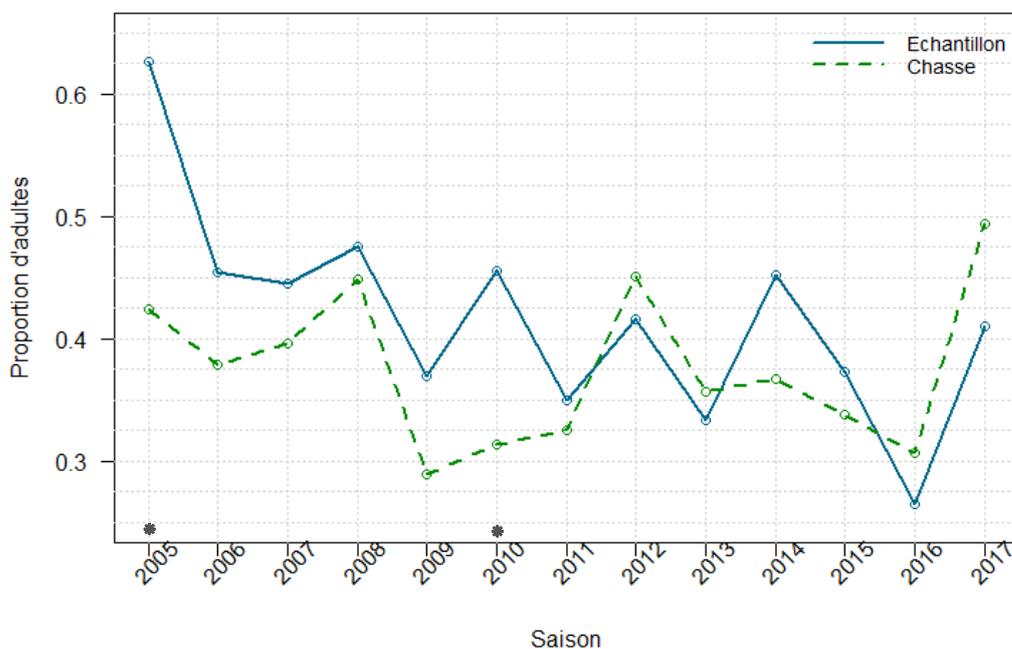


Figure 17 - Evolution comparée de la proportion d'« adultes » (>50kg) dans l'échantillon et la population chassée

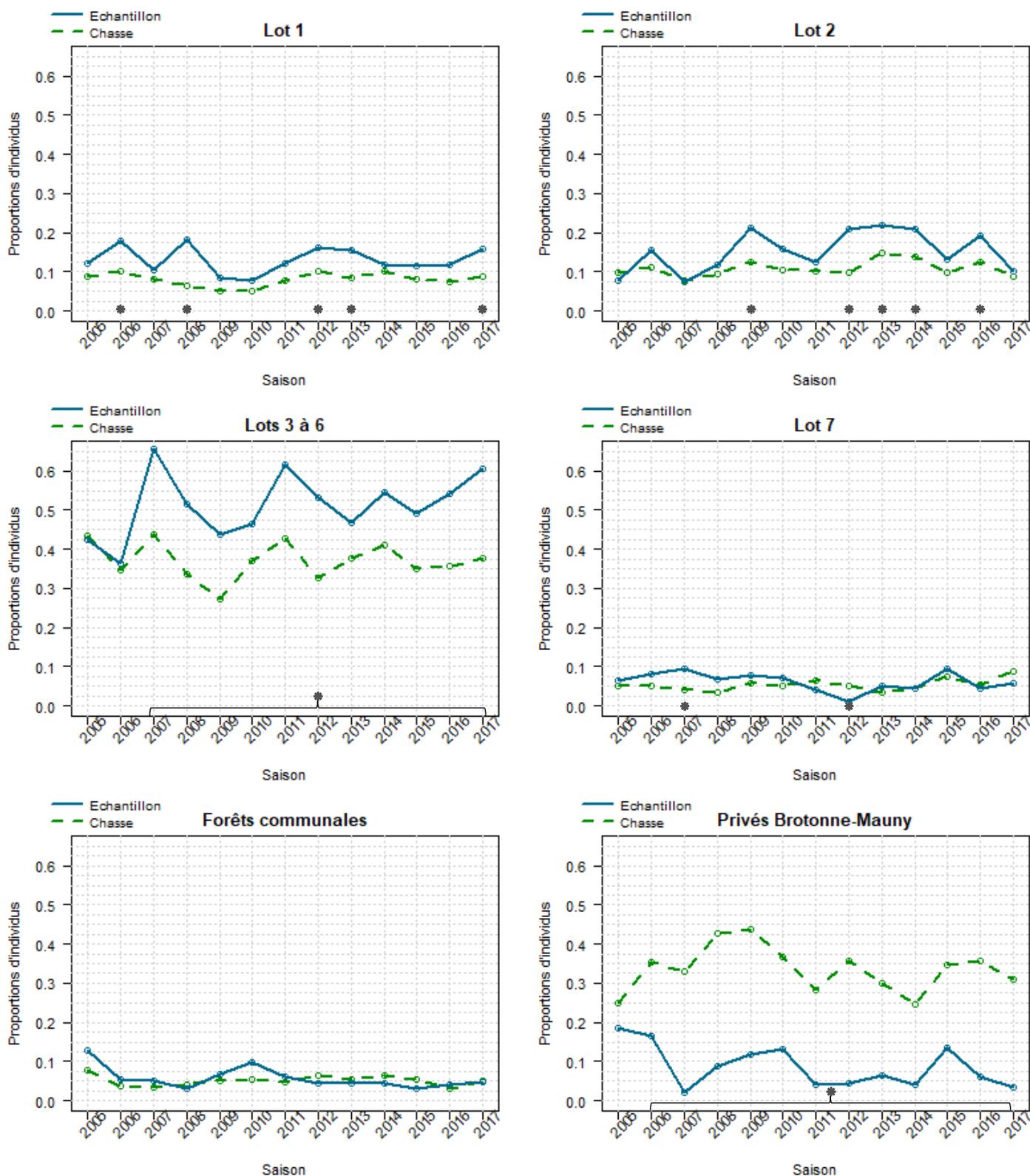


Figure 18 - Evolution comparée de la proportion d'individus provenant de chaque zone dans l'échantillon et la population chassée

Annexe 6 : Proposition d'arbre de scénario pour le protocole appliqué de 2015 à 2017

Adapté selon (Rivière et al. 2015).

Les lignes pointillées indiquent un départ de branche symétrique à celle représentée en exemple.

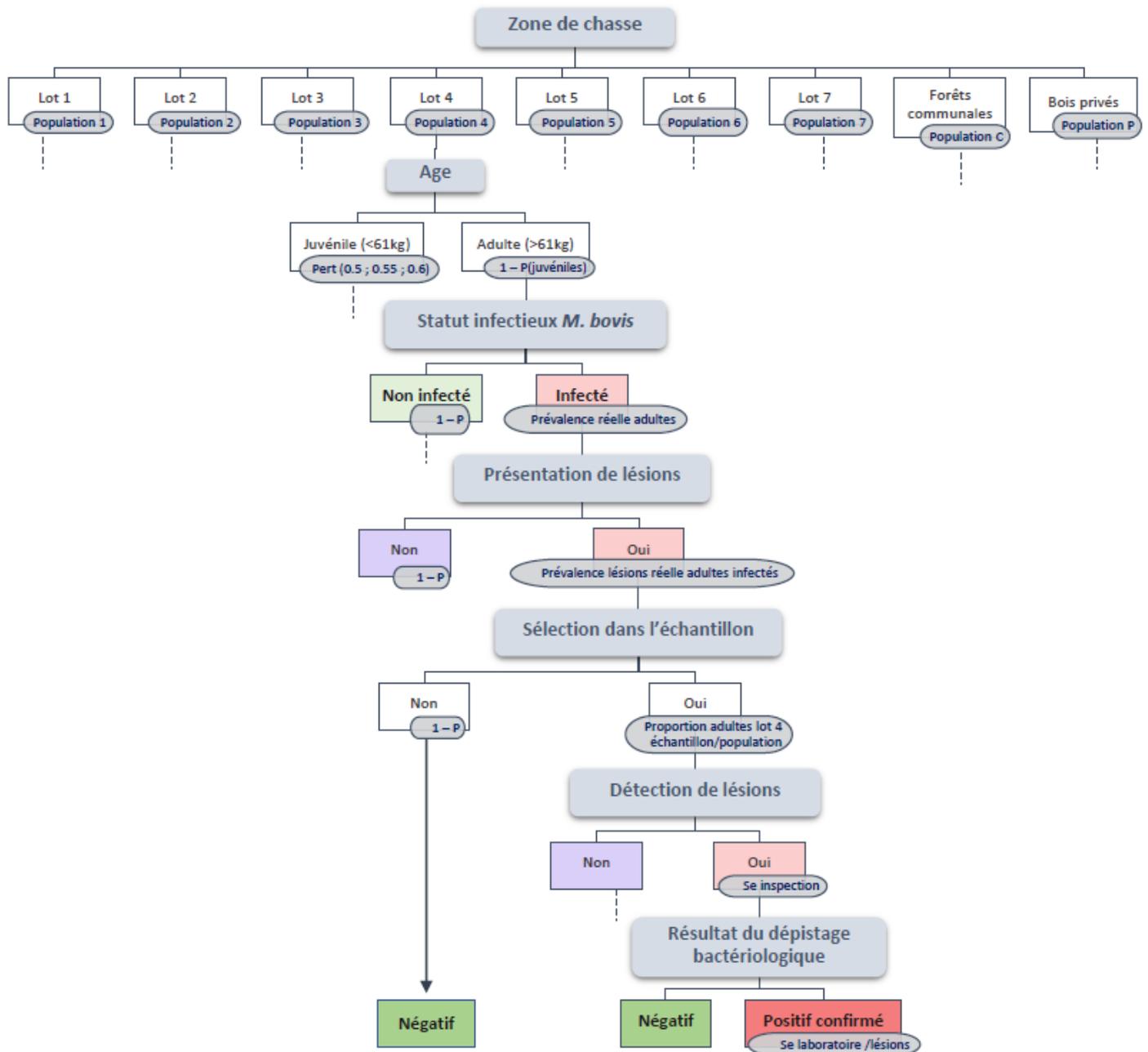


Figure 19 - Proposition d'arbre de scénario pour le protocole appliqué de 2015 à 2017 (adapté d'après Rivière et al. 2015)

La sensibilité individuelle du dispositif (Se_U) peut ensuite être calculée en additionnant les probabilités de résultat positif sur chaque branche. Celles-ci sont obtenues par multiplication des proportions de population dans chacune des catégories à risque avec les probabilités d'infection et de détection, soit $Se_U = \sum_{branches} [Proportion \times Prévalence \times Sensibilité]$.

La sensibilité globale du dispositif (Se , capacité de détecter l'infection) est obtenue pour une prévalence réelle fixée et à partir de la sensibilité individuelle Se_U et de l'effectif échantillonné n par la formule suivante : $Se = 1 - (1 - Se_U)^n$.

Annexe 7 : Anato-pathologie de la tuberculose bovine chez le sanglier

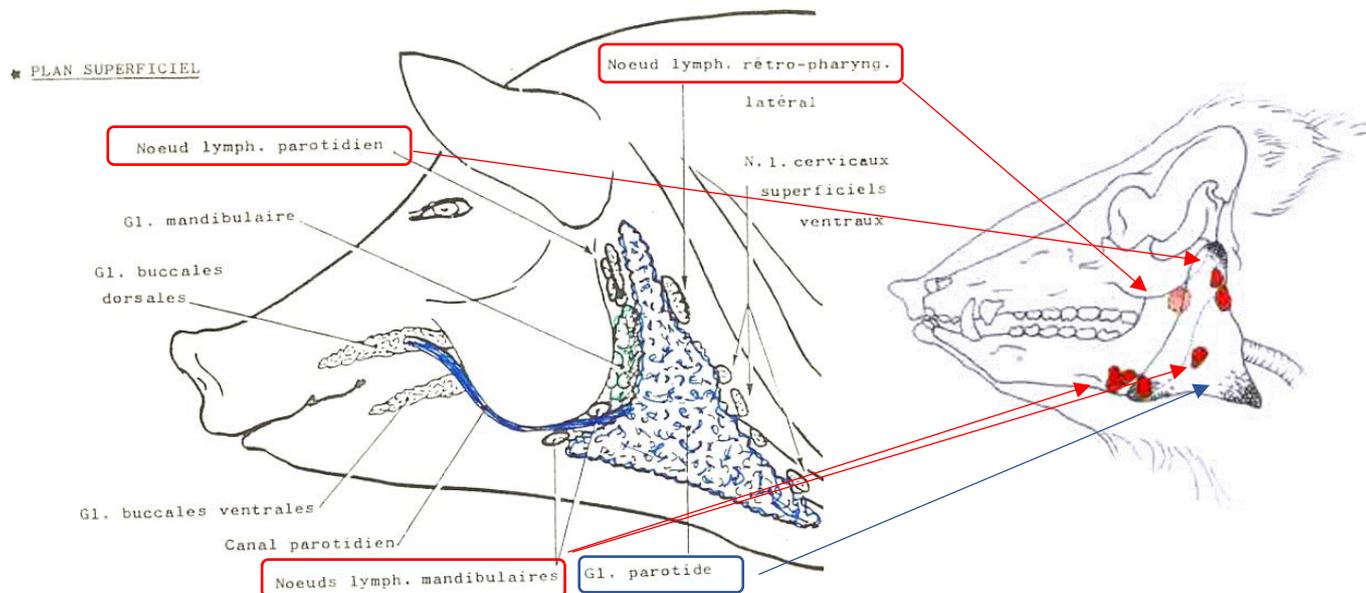


Figure 20 - Anatomie des nœuds lymphatiques céphaliques et glandes salivaires du porc comparée au sanglier
 Images : (Barone 1996), (Nigsch, Ryser, et al. 2014)

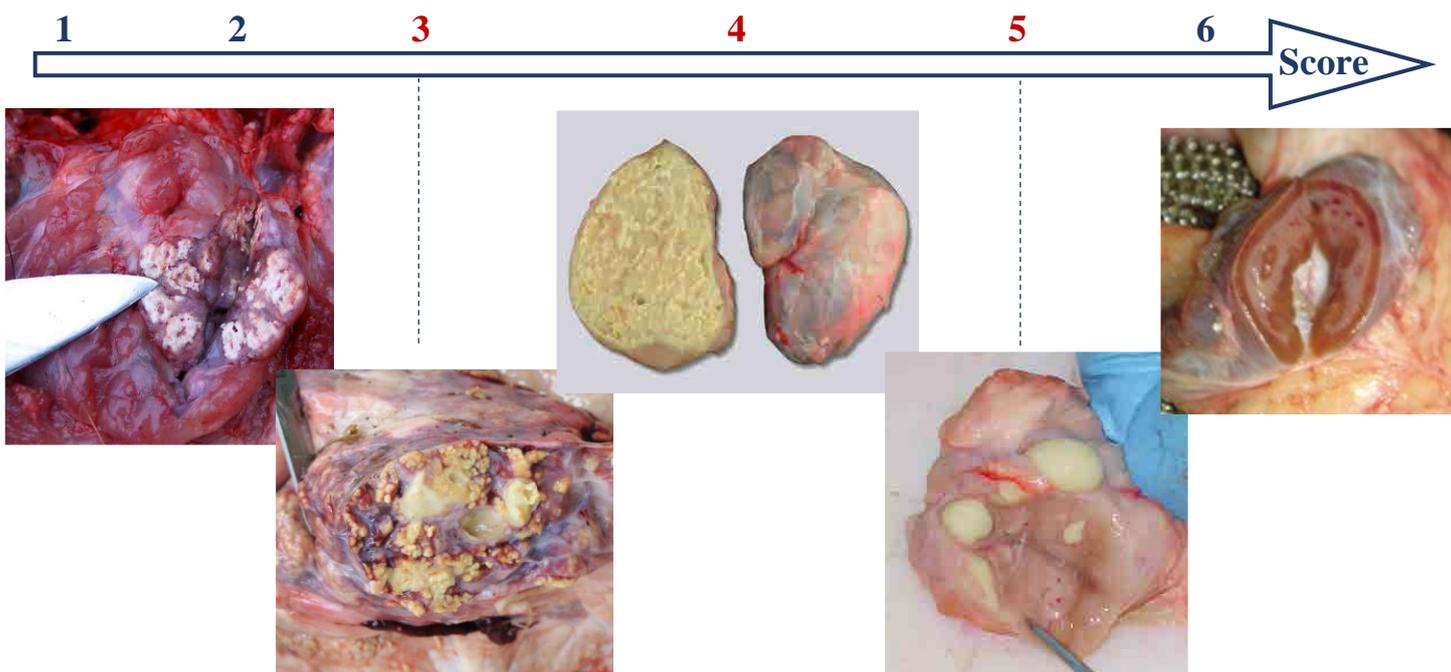


Figure 21 - Différents types de lésions de tuberculose selon l'échelle de scores établie par le protocole de Brotonne

Score 1 à 2 : calcification ponctuelle à diffuse, sans caséum. Nœud lymphatique (NL) rétropharyngien de sanglier

Score 3 : lésion caséo-calcaire. Nodule pulmonaire de bovin.

Score 4 : lésion caséuse. NL mandibulaire de sanglier.

Score 5 : lésion purulente. NL rétropharyngien de cerf.

Score 6 : autre : lésion nécrotique, hémorragie, hypertrophie... NL mésentérique de bovin (hypertrophie hémorragique)

Images : (Nigsch, Ryser, et al. 2014), (Nigsch, Luginbühl, et al. 2014), (Maeder 2007)

Annexe 8 : Exemple type d'organisation de Sylvatub pour un département

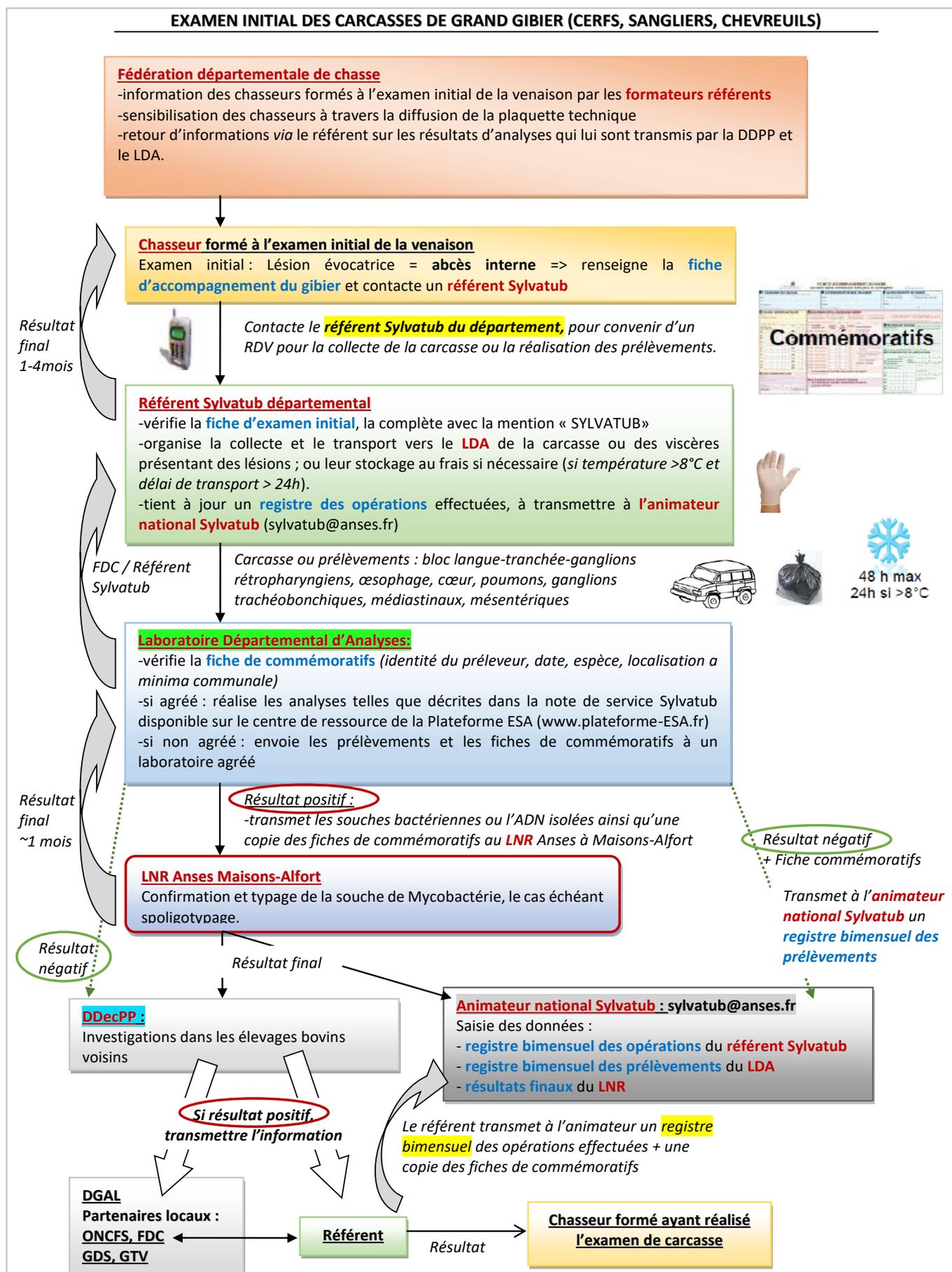


Figure 22 - Fiche réflexe départementale pour la surveillance du grand gibier. D'après les documents de la plateforme ESA sur www.plateforme-esa.fr

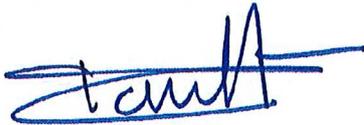
En rouge sont indiqués les acteurs du réseau. **En bleu** sont indiquées les bases de données recueillies.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **Mathilde PAUL**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Chloé LE GALL** intitulée « **Tuberculose bovine en forêt de Brotonne : évolution de la situation chez le sanglier** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 27 novembre 2018
Docteur **Mathilde PAUL**
Maître de Conférences
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu : 27.11.2018
La Directrice de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



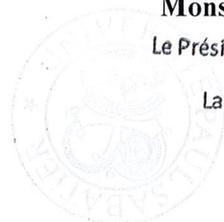
Pour la Directrice et par délégation,
le Directeur Scientifique
François SCHELCHER

Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Gérard CAMPISTRON**



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CEVU




Régine ANDRE-OBRECHT

Mlle **Chloé LE GALL**
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 02/07/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Toulouse, 2018

NOM : Le Gall-Ladevèze

PRENOM : Chloé

TITRE: TUBERCULOSE BOVINE EN FORET DE BROTONNE: EVOLUTION DE LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE ET PERFORMANCE DE LA SURVEILLANCE DE LA MALADIE CHEZ LE SANGLIER

RESUME

Suivant la découverte en 2001 en forêt de Brotonne du premier foyer sauvage de *Mycobacterium bovis* en France, à un niveau élevé de prévalence, des mesures de contrôle adaptées ont été appliquées chez les cerfs et les sangliers. Ceux-ci ont aussi fait l'objet d'une surveillance programmée annuelle par bactériologie sur prélèvements d'organes depuis 2005. Une analyse spatio-temporelle du risque d'infection a d'abord été réalisée par régression logistique. Il est observé un risque accru dans certaines zones, mais le maintien à bas bruit de l'infection depuis 2009 reste difficile à expliquer. Ensuite, une évaluation des performances du dispositif de surveillance a été menée. La distribution de l'échantillonnage a montré des déséquilibres spatiaux, mais la sensibilité du protocole de diagnostic s'est montrée toujours relativement bonne, permettant à la puissance de détection annuelle de la tuberculose dans le foyer de Brotonne d'être meilleure que dans ceux du département de Côte d'Or.

MOTS-CLES : TUBERCULOSE BOVINE, EPIDEMIOLOGIE, SURVEILLANCE, SANGLIER, FAUNE SAUVAGE, BROTONNE

TITLE: BOVINE TUBERCULOSIS IN BROTONNE FOREST: EVOLUTION OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION AND DISEASE SURVEILLANCE PERFORMANCE IN WILD BOAR

ABSTRACT

Following the discovery in 2001 in Brotonne forest of the first wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis* in France, at a high prevalence level, adapted control measures were implemented among deers and wild boars. The second have also been subject to yearly active surveillance by bacteriology on organs samples since 2005. A space-time analysis of the risk of infection was first performed by logistic regression. An increased risk was observed in some areas, but the maintenance of the infection at a low prevalence since 2009 was difficult to explain. Then, performance evaluation of the surveillance system was conducted. Sampling distribution showed space distortions, but the sensitivity of the diagnosis protocol remained relatively good, allowing the annual detection power of tuberculosis in Brotonne's reservoir to be better than in Côte d'Or area's ones.

KEYWORDS: BOVINE TUBERCULOSIS, EPIDEMIOLOGY, SURVEILLANCE, WILD BOAR, WILDLIFE, BROTONNE