



**PRÉFET
DE LA RÉGION
BOURGOGNE-
FRANCHE-COMTÉ**

*Liberté
Égalité
Fraternité*



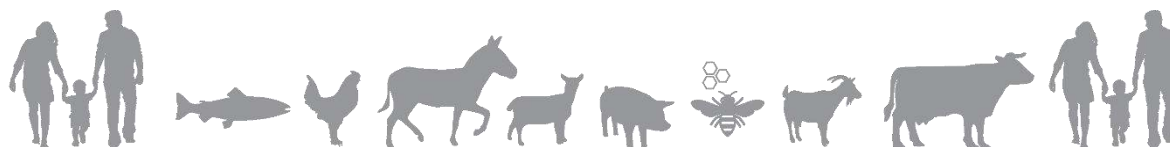
gtv Bourgogne
Franche-Comté
GROUPEMENTS TECHNIQUES VÉTÉRINAIRES
DE BOURGOGNE-FRANCHE-COMTÉ



GDS
Côte-d'Or

Conférence

TUBERCULOSE BOVINE EN ELEVAGE ET INTERFACE AVEC LA FAUNE SAUVAGE. ACTUALITES SCIENTIFIQUES ET SANITAIRES

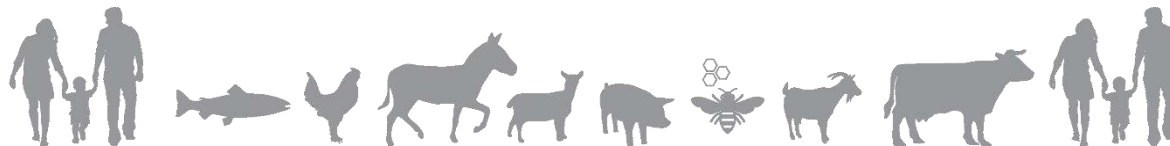


Le 26/11/2024



Remerciements du président

Jean-Luc Chevalier



Programme:

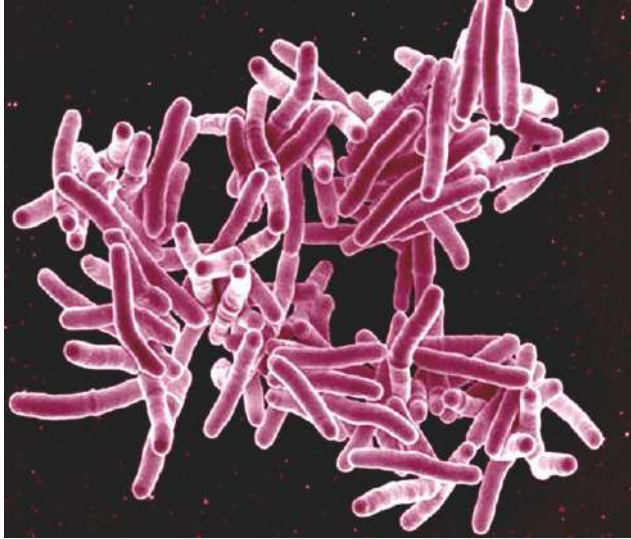
➤ EPIDEMIOLOGIE GENERALE



➤ SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DE LA COTE D'OR



➤ MESURES DE GESTION



EPIDEMIOLOGIE GENERALE

Céline Richomme - Stéphanie Desvaux
Maria-Laura Boschioli - Lorraine Michelet



Tuberculose bovine et fonctionnement des systèmes multi-hôtes

Rôles des populations d'espèces sauvages
dans la circulation de *M. bovis* :
compréhension et exemples



Céline Richomme et Stéphanie Desvaux

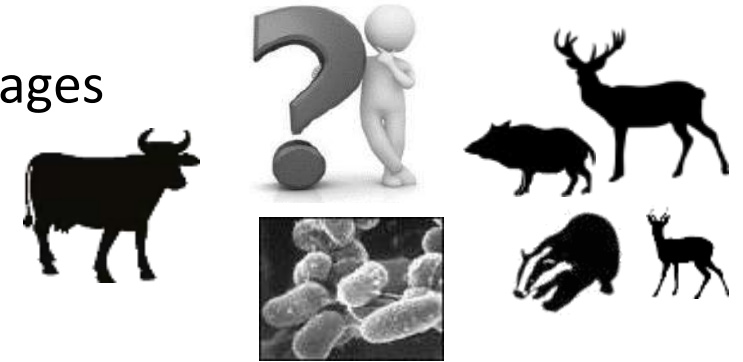


La tuberculose bovine (TB), un système complexe à appréhender

- Transmission des bacilles : directe (respiratoire nez-à-nez, cutanée) et indirecte (respiratoire ou digestive par inhalation ou ingestion de matrice contaminée)
- Infection chronique (faible expression clinique et portage long)
- Beaucoup d'espèces sensibles

→ Circulation au sein de système multi-hôtes domestiques & sauvages

- Quels sont les implications des espèces selon les zones (agro-écosystèmes) ?
- Quel sont les degrés et les type d'interactions entre la FS et le système d'élevage ?
- Quel est le rôle de l'environnement dans ce système ?



Une population peut avoir un rôle important dans la transmission (être source) et contribuer au maintien de la circulation sans pour autant constituer à elle seule une population de persistance

**Les mesures de gestion doivent s'appuyer sur une bonne compréhension
du système épidémiologique pour être efficaces**

Gestion d'une épizootie impliquant la faune sauvage : quelles questions se poser pour mieux comprendre ?

- Quel est le niveau d'infection dans les populations en présence ?
Est-on capable de le mesurer ? Ce niveau évolue-t-il dans le temps ?



Quelles sont les densités des espèces en présence et leur dynamique de population ?

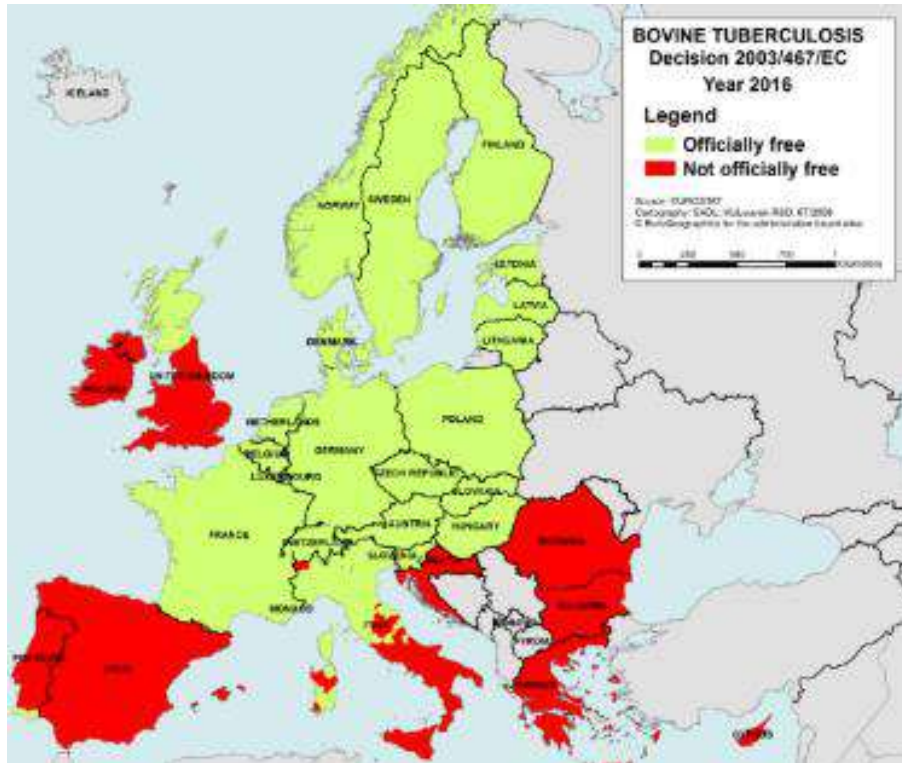
Quelle est la répartition spatiale des populations et leur utilisation du paysage ?

Quelles sont les interactions entre individus d'espèces sensibles ?

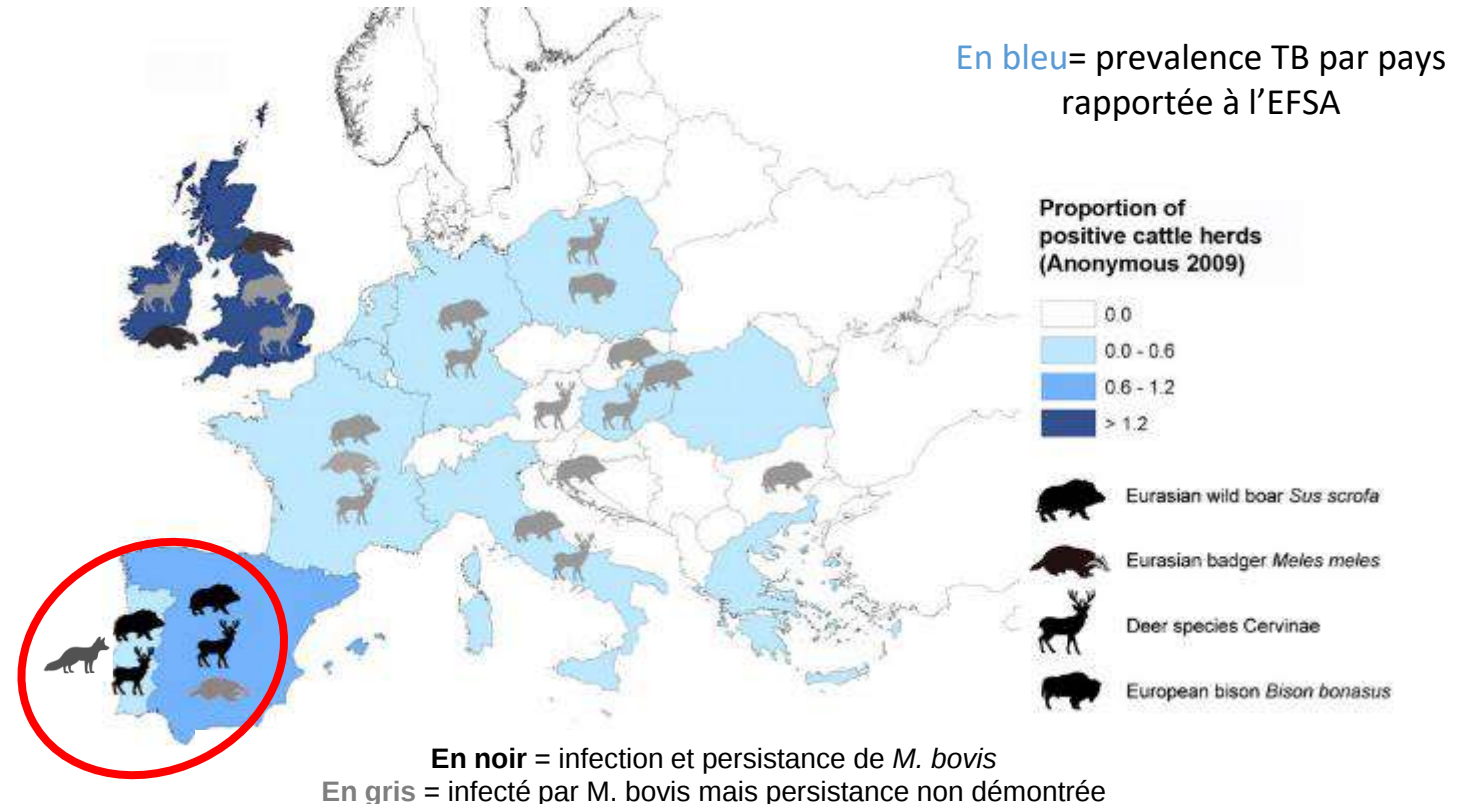
L'espèce/population joue-t-elle un rôle majeur dans la circulation de la maladie sur un territoire donné (source pour d'autres espèces, contribution à la persistance) ?

En Europe, des situations contrastées

... avec des pays officiellement indemnes (OTF) et d'autres non ...



... et des implication variées des principales espèces de mammifères sauvages en contact avec les bovins



Situation dans les îles britanniques

Prévalence bovine forte. Blaireaux trouvés infectés depuis les années 1970. Dès fin années 1990/début 2000, études en GB et Irlande suggérant implication significative des blaireaux dans la circulation de *M. bovis*/transmission aux bovins



- ✓ Proportion substantielle de la population de blaireaux irlandais infectée par *M. bovis* (12 % à 43 % selon les protocoles utilisés) ^(1,2)
- ✓ Bovins et blaireaux à proximité partageant souches génétiquement similaires, cohérent avec une transmission interspécifique passée ou contemporaine ^(3,4)
- ✓ Association positive significative entre infection chez les bovins et les blaireaux 1 km autour des terriers de blaireaux ⁽¹⁾
- ✓ Transmissions intraspécifiques prédominante (bv-bv ou bl-bl) en Irlande ⁽⁵⁾ ; tendance aussi observée en GB avec transmission bl-bv = 5 % des introductions, mais effet possiblement amplifié ensuite par transmission intra-bv ⁽⁶⁾

Depuis 1971 abattage blaireaux, avec certaine efficacité (↘ incidence bv et blx) ^(7, 8, 1) mais remise en question en GB ⁽⁹⁾

Vaccination blaireaux (AMM inj. GB 2010) avec efficacité terrain démontrée en Irlande ^(10, 11, 12)

Décision de l'arrêt de l'abattage blaireaux en 2025 en GB avec dépistage bv intensifié et données rendues publiques

(1) Byrne et al., 2015. Prev Vet Med, 122, 345 ; (2) Courcier et al., 2018. Vet Record, 182, 259 ; (3) Olea-Popelka et al., 2005. Prev Vet Med, 71, 57 ;

(2) (4) Milne et al., 2020. Pathogens, 9, 592 ; (5) Akhmetova et al., 2023. Microb Genomics, 9 ; (6) Donnelly and Nouvellet, 2013. "PLoS Currents, 10 ;

(7) Clifton Hadley et al. 1995, Epidemiol Infect, 114, 179 ; (8) Donnelly et al., 2007. Int. J Infect. Dis, 11, 300; (9) Togerson et al., 2024. Scientific reports, 14, 16326 ;

(10) Aznar et al., 2018. Prev Vet Med, 149, 29; (11) Arnold et al, 2021. Plos ONE, 16, e0246141 ; (12) Gormley et al., 2022. Transbound Emerg Dis ,69, e10-e19

Situation en péninsule ibérique

Portugal

Systèmes multi-hôtes impliquant bovins, ongulés sauvages (1) et renards (2)

Ex. : sangliers (21% [16-28]), cerfs (38% [30-47])
renards roux (37 % [17-40])

Peu de blaireaux

Contribution des mangoustes (EEE) ?

→ Transmission par voie digestive
(charognage de carcasses d'ongulés)



(1) Santos et al., 2009. J. Wildl. Dis. 45, 1048–1061.
(2) Matos et al., 2016. Transbound Emerg Dis 63, e313



Asturies

OTF mais hotspots de TB

Système multi-hôtes impliquant bovins, blaireaux et possiblement sangliers (3, 4)

Galice : rôle suspecté des moutons (5)

Centre/sud de l'Espagne

TB endémique chez bovins et ongulés sauvages (5, 6)

Sanglier et Cerf réservoirs

(capable de maintenir et transmettre *M. bovis* même en l'absence d'autres hôtes)

→ Transmission via ressources partagées (eau et nourriture) (5)

→ Importance de la gestion des déchets de chasse (8)



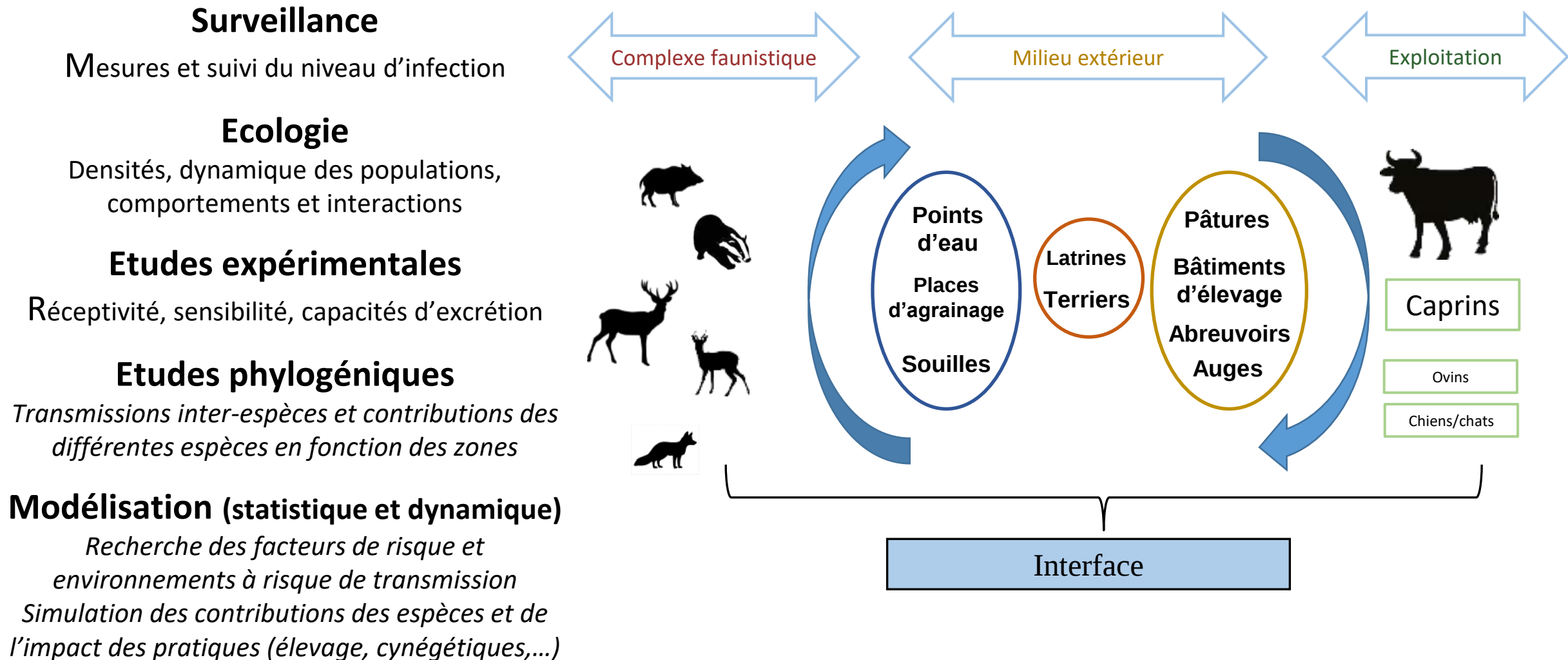
(3) Blanco et al., 2021. Animals, 11 ; (4) Herrero-García et al., 2023. Transbound Emerg Dis, e2147191 ;

(5) Muñoz-Mendoza et al., 2016. Transbound Emerg Dis 63, 635 ; (5) VArana et al., 2004 ;

(6) Vicente et al., 2013. Transbound Emerg Dis, 60, 92 ; (7) Barasona et al., 2017. Transbound Emerg Dis, 64, 1148 ;

(8) Cano-Terriza et al., 2018. Transbound Emerg Dis, 65, 1190

Comprendre les systèmes multi-hôtes : des approches intégrées/multidisciplinaires nécessaires



Suivi des niveaux d'infection : une surveillance nécessaire sur le moyen et long terme

Objectif général de la surveillance : **estimer et suivre les niveaux d'infection dans les populations**

→ Des défis méthodologiques pour obtenir des données robustes

(échantillons de qualité, en nombre suffisant, échantillonnage le moins biaisé possible, analyses labo harmonisées)

Programme national SYLVATUB depuis 2012 :

Combine différentes modalités de surveillance (évènementielle, programmée)

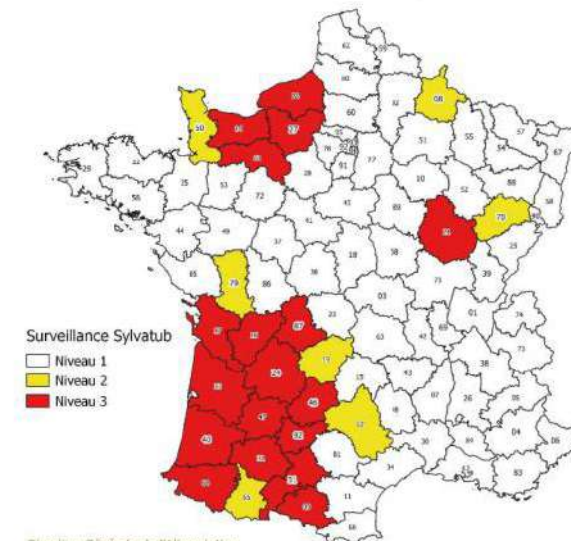
Vise différents hôtes (blaireaux, sangliers, cervidés)

Permet d'avoir des estimateurs comparable dans le temps/ entre territoires

- ✓ Contribue à qualifier les rôles des différentes populations selon les zones
- ✓ Permet de détecter un passage dans la faune sauvage/environnement
- ✓ Contribue à l'analyse du risque pour les bovins et à la définition des zones de surveillance bovine
- ✓ Permet de suivre l'effet des mesures de gestion

→ *A venir : bilan/retours d'expérience des 12 années de surveillance*

SYLVATUB - Niveaux de surveillance / Départements



Direction Générale de l'Alimentation
Coordination SYLVATUB
09/02/2024



Plateforme ESA
Epidémiologie santé animale

Estimation des densités/abondance des populations : nécessaire mais difficile

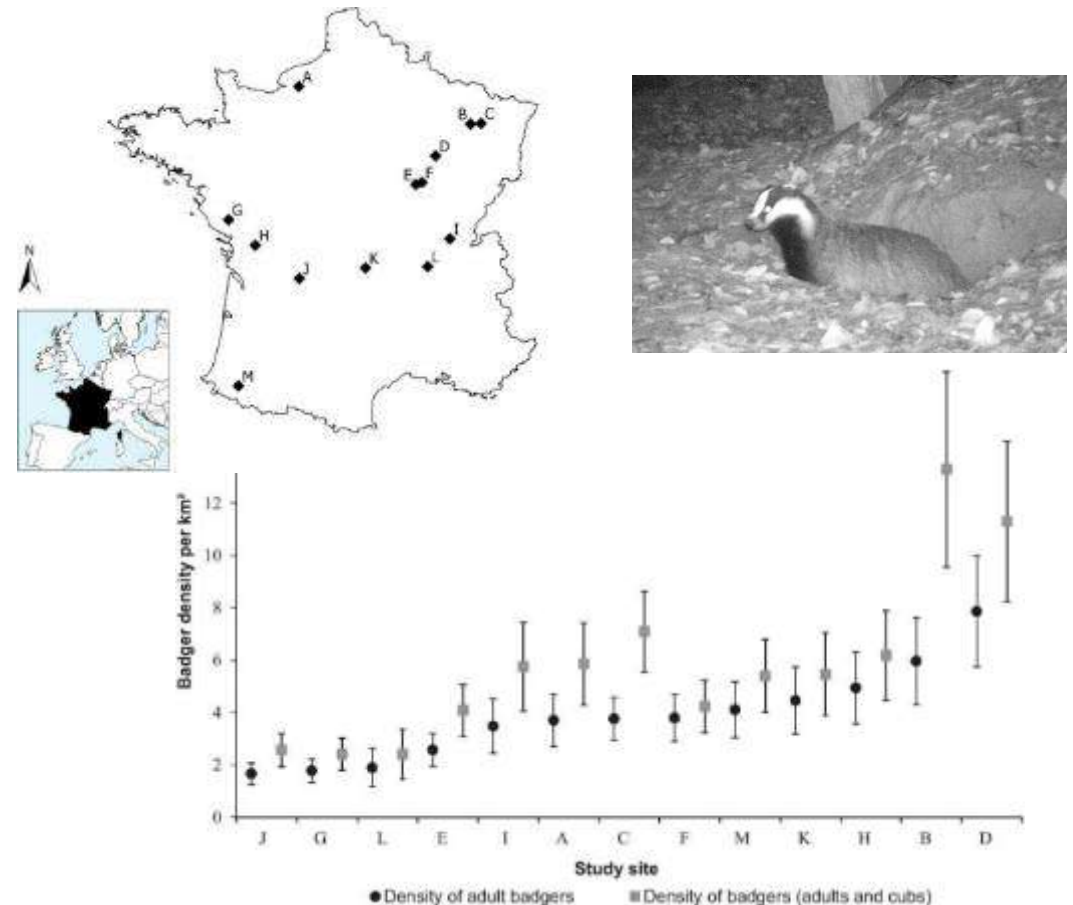
Abondance des ongulés : estimation basée sur les tableaux de chasse annuel des cervidés et sangliers

Abondance des blaireaux :

Développement d'un protocole harmonisé d'estimation
des densités

Transects, de mars à juin, pour rechercher et estimer
densités de terriers actifs sur ~15 zones de 50 km²) et
taille des groupes (piège photo, analyses génét. sur poils)

- 3,8 adultes/km² mais grand variabilité selon les écosystèmes (1,7 à 7,9 adultes/km²)
- Densités liées à proportion d'habitat favorables (forêt, lisières, haies)
- Densités plus faibles quand paysages fragmentés



Compréhension de l'interface FS / FD

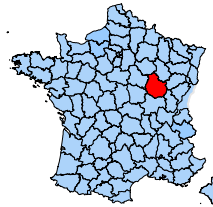
Des mesures de terrain aux travaux de modélisation à des échelles plus larges

Identification des espèces, des périodes et des zones à risque



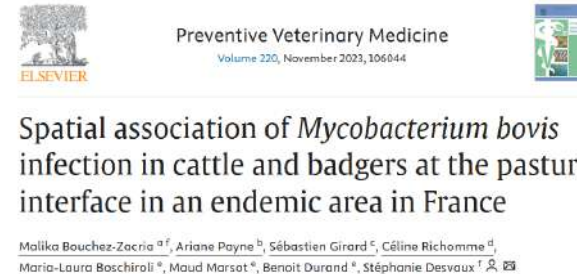
- **Sanglier** : espèce la plus fréquente (5 visites/100 nuits, plus fréquentes autour des points d'eau et en été)
- **Cerf** : visites + fréquentes au niveau des pierres à sel et en été
- **Blaireau** : plus fréquent en hiver et sur les mangeoires des pâtures
- **Renard** : visites fréquentes aussi

Identification des parcelles à risque

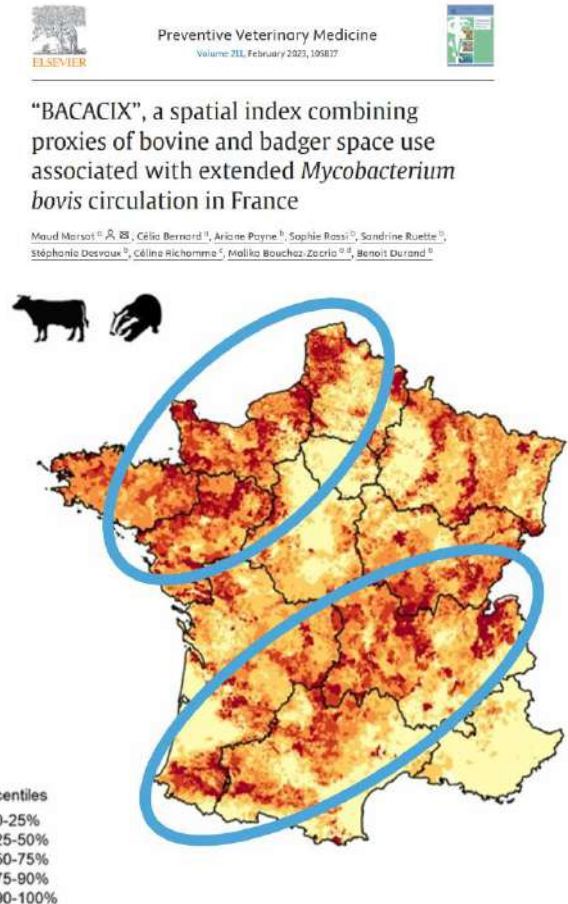


Interface de transmission : mesure de l'association spatiale entre blaireaux infectés et pâtures d'élevages infectés

- Infection des blaireaux dépendante de la distance aux pâtures foyers
- Prioriser la surveillance des blaireaux (1) 300m autour des pâtures-foyers puis (2) jusqu'à 600m



Identification des zones à risque d'interface



Compréhension de l'interface FS / FD

Mesure indirecte de la fréquentation des pâtures (scoring)

Choix des indices de présence



Élaboration de la grille d'évaluation

GRILLE D'ÉVALUATION DE PÂTURE v4

DATE	N° PÂTURE	NOM PROPRIÉTAIRE	LOCALISATION	COORDONNÉES	TYPE DE PÂTURE	ÉTAT	TYPE D'USAGE	COORDONNÉES
ÉLÉMENTS NOTÉS ÉLÉMENTS NON NOTÉS ÉLÉMENTS ÉLIMINÉS								
TOTAL DES POINTS DE PÂTURE		TOTAL DES POINTS DE PÂTURE		TOTAL DES POINTS DE PÂTURE				

TOUR DE PÂTURE

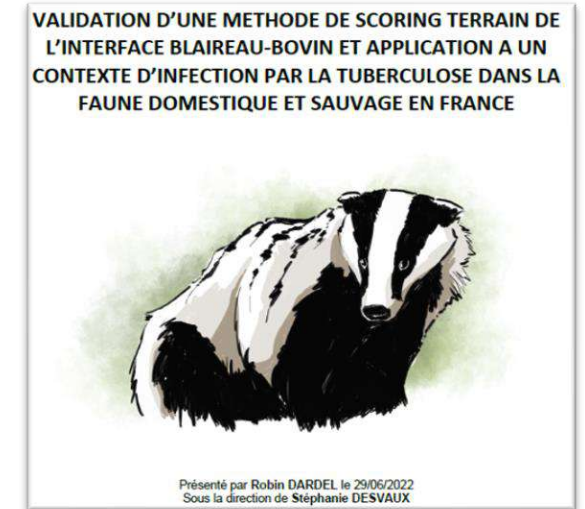
Intervalle de temps	Observations	Observations	Observations	Observations
COULÉES				
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			

TRAVERSEE DE LA PÂTURE

Intervalle de temps	Observations	Observations	Observations	Observations
COULÉES				
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			

VISITE DES POINTS DE STATIONNEMENT

Intervalle de temps	Observations	Observations	Observations	Observations
COULÉES				
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			
PÂTURES	Blancs			
	Auvin			
	Non identifié			
	Sarguer			



- Méthode « **simple** » mais chronophage (30mn à 2h/pâture)
- Observations conditionnées par les **conditions météorologiques**
- **Formation nécessaire** pour standardiser le relevé d'indices
- Système de notation satisfaisant : bonne **discrimination des pâtures**

Contributions actuelles des différents hôtes en France



Les bovins : amplifient et dispersent *M. bovis* sur le territoire (voisinage de pâture, commerce), contaminent l'environnement

Les blaireaux :



- Espèce territoriale, domaine vital restreint, durée de vie assez longue, vie en groupe social, utilisent des terriers tout au long de l'année
- Utilisation des pâtures de bovins pour se nourrir (vers de terre, etc.) mais variable selon les paysages
- En zone d'enzootie bovine, taux d'infection parfois élevés

→ Source possible de *M. bovis*, risque de transmission retour aux bovins à prendre en compte dans certains territoires

Les sangliers



- Domaine vital plus large, durée de vie assez courte pour une grande part de la population (pression de chasse ++)
- Utilisation des pâtures pour se nourrir également mais interface avec les bovins généralement moins forte, variable selon paysage
- Interface avec les blaireaux et autres ongulés (contacts indirects sur pâtures, point d'eau et place d'agrégation)
- Taux d'infection généralement moins élevés

→ Risque de transmission aux bovins possible mais moindre ; indicateurs de l'infection dans l'environnement

Les cervidés



- Peuvent utiliser les pâtures et sont sensibles à l'infection ; trouvés infectés en zone de forte enzootie

→ Source possible mais risque limité pour l'élevage dans des conditions maîtrisées de densité (cerfs)

Les renards

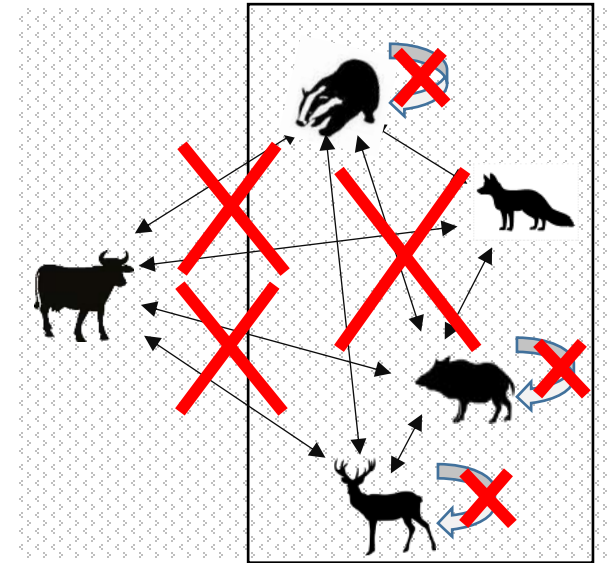


- Renouvellement rapide des pop. ; n'utilisent des terriers que ponctuellement et pas de manière systématique (surtout pour mise bas)
- Fréquentent les pâtures pour se nourrir et les bâtiments d'élevage (nourriture, mise bas)
- Infection limitée à certaines zones très infectées par ailleurs

→ Risque de transmission aux bovins limité mais à prendre en compte si trouvé infecté (autour des bâtiments d'élevage)

Pour conclure, que retenir ?

- ✓ Existence de **complexes multi-hôtes** dans différents territoires en France, qui se sont constitués au fil du temps et dont les **communautés d'hôtes** et leurs **interactions varient selon les agro-écosystèmes et l'interface** entre les populations/individus
- ✓ Les compartiments pris individuellement ne permettent pas toujours à l'infection de persister (dans le contexte actuel des mesures de gestion), cette persistance est rendue possible du fait de la circulation de *M. bovis* au sein d'un complexe multi-hôtes



→ Les mesures de prévention et de gestion doivent viser à **limiter l'infection** au sein des **différents compartiments** et à **interrompre les transmissions** au sein/entre compartiments domestiques, environnementaux et sauvages

A tous les acteurs et partenaires de la surveillance, la recherche et la gestion de la tuberculose bovine





anses

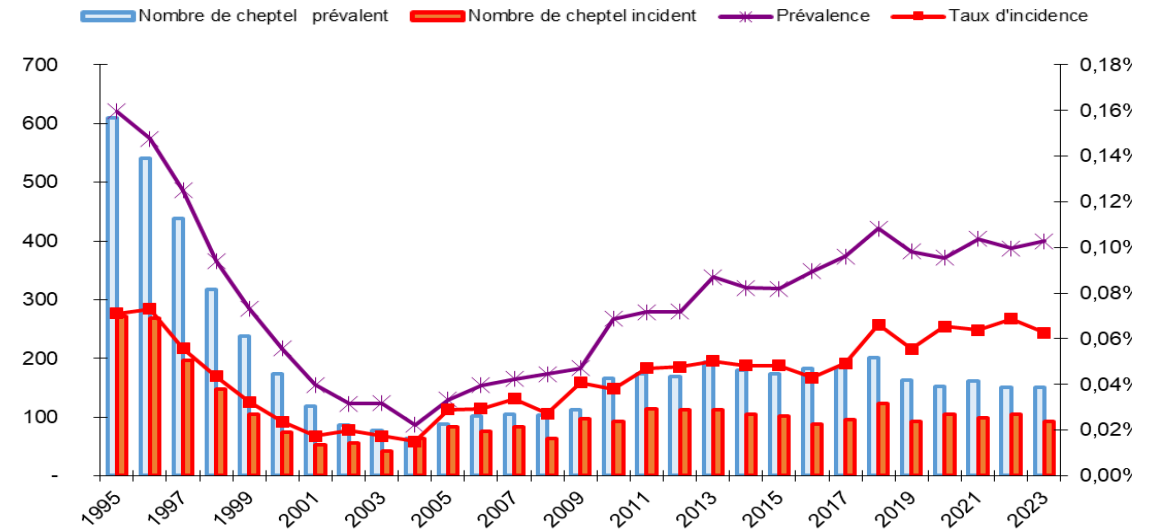
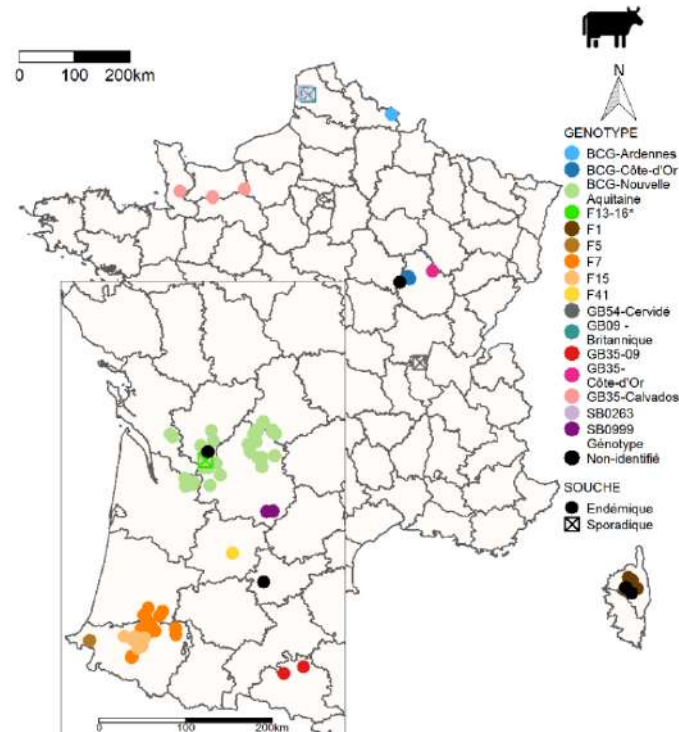
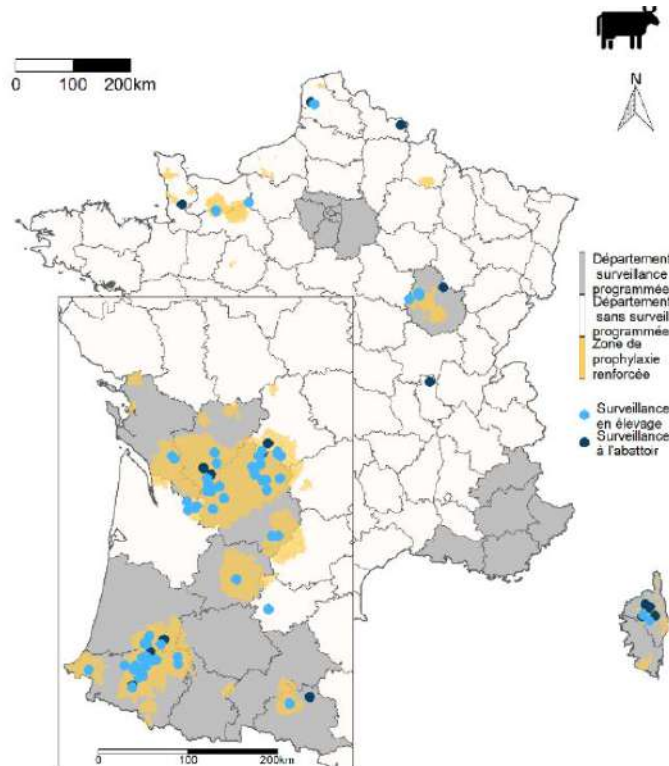
**Modélisation de la transmission de
Mycobacterium bovis entre animaux
domestiques et sauvages :
comparaison de plusieurs zones d'endémie**

1 — Contexte



Situation épidémiologique de la tuberculose bovine

- Augmentation du nombre de foyers depuis 10 ans



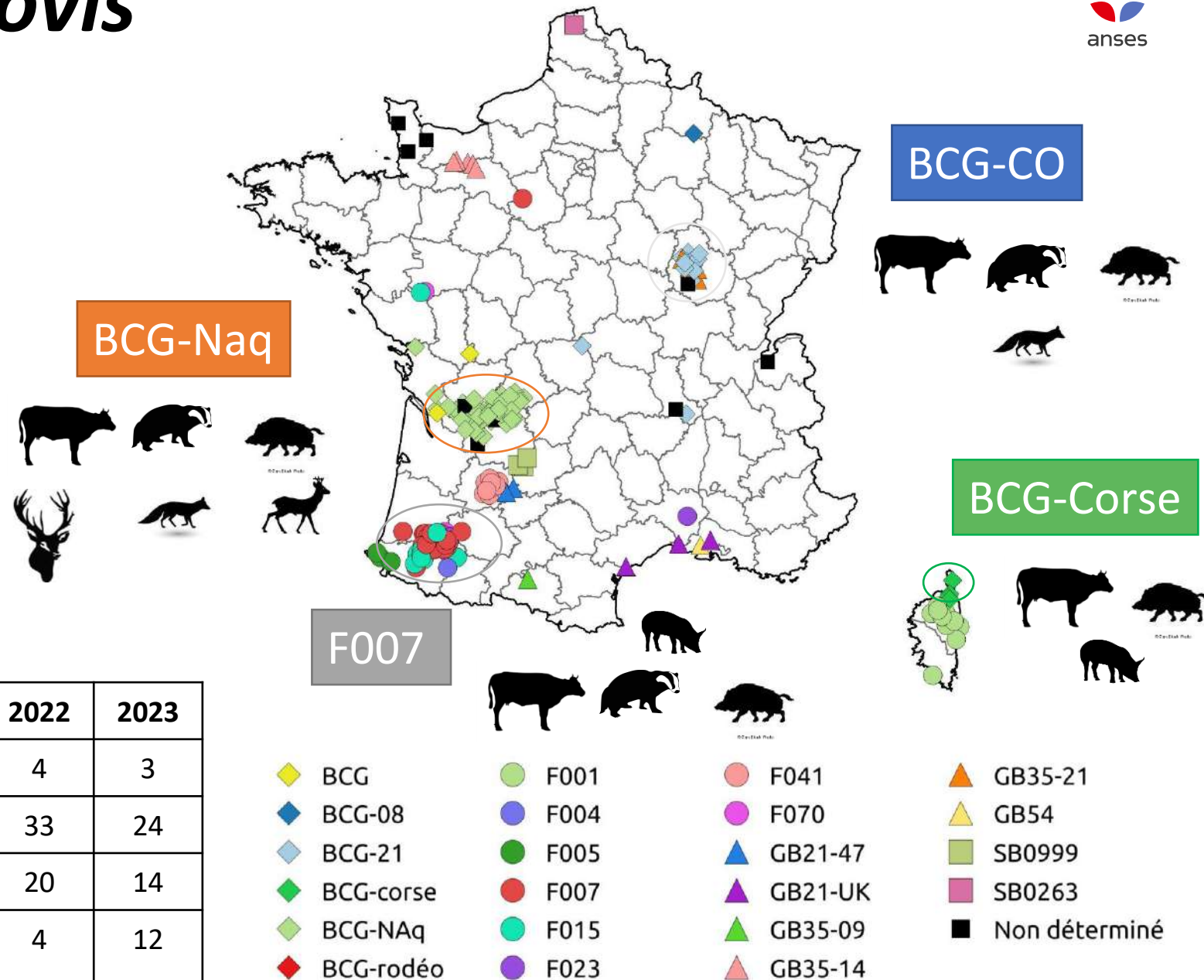
Régionalisation de la tuberculose:
Nouvelle-Aquitaine, Côte-d'Or,
Normandie

Génotypes de *M. bovis*

- Bactérie très **clonale**
- Forte **régionalisation** avec des génotypes prédominants
- Système multi-hôte** : bovin – faune sauvage (blaireaux, sangliers, autres espèces?)

Nombre de foyers identifiés ces 5 dernières années

	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
BCG-CO	3	2	2	6	2	4	3
BCG-Naq	40	42	33	38	37	33	24
F007	17	15	14	17	18	20	14
BCG-Corse	0	0	0	1	1	4	12



Problématique

Les outils actuels: **spoligotyping** et **VNTR**

- Identification de l'origine des foyers
- Étude temps / espace : comprendre la dynamique de l'infection

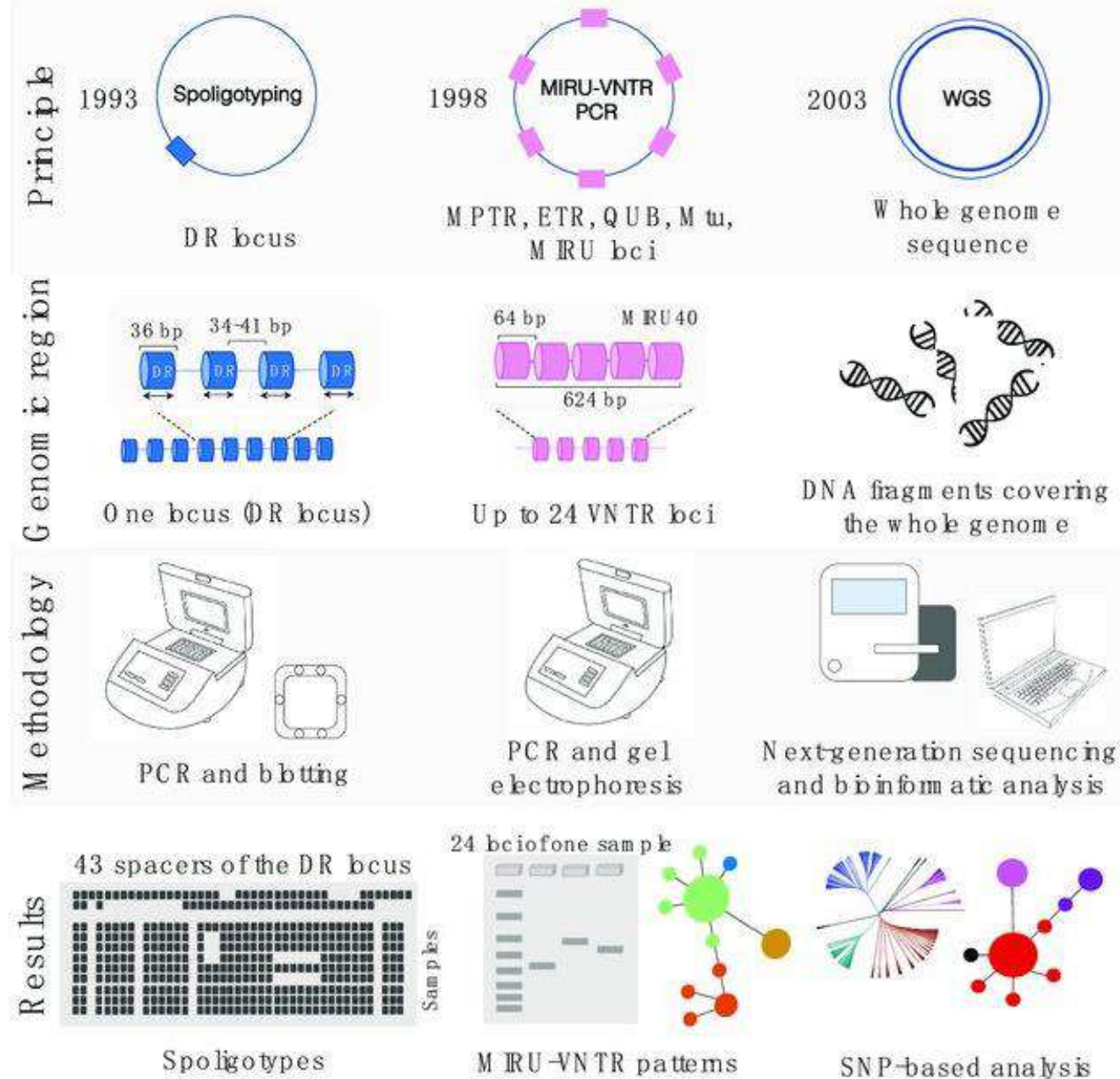
Limites → Reconstruction de la chaîne de transmission impossible

Séquençage du génome complet

- Résolution très fine pour relier les souches
- Différenciation résurgence/ nouvelle contamination

Modélisation phylodynamique

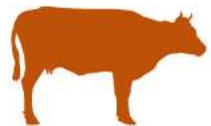
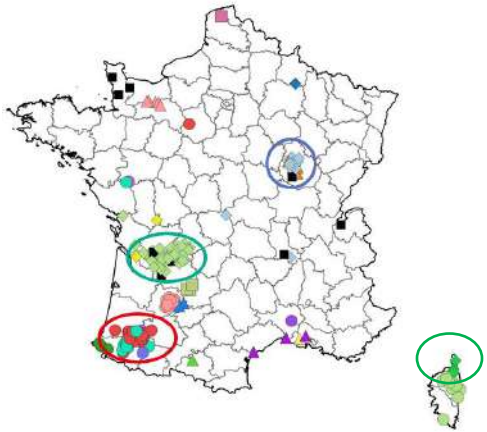
- Arbre phylogénétique daté
- Ancêtre : date de circulation, espèce hôte
- Rôle de chaque espèce



2 — Matériels et méthodes



Matériel



CdO

144 souches
SB0120 - 5 5 4 3 1 1 4 5 6
2009-2014

DHV

218 souches
SB0120 - 5 3 5 3 9 4 5 6
2010-2017

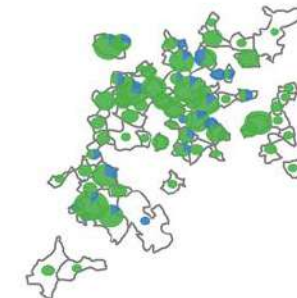
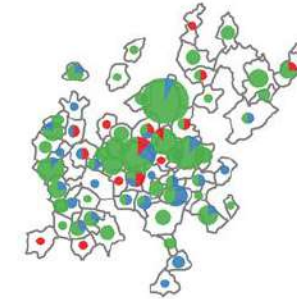
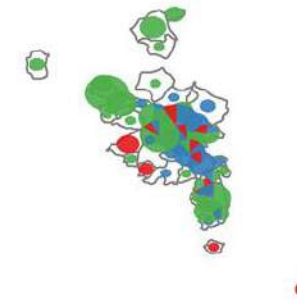
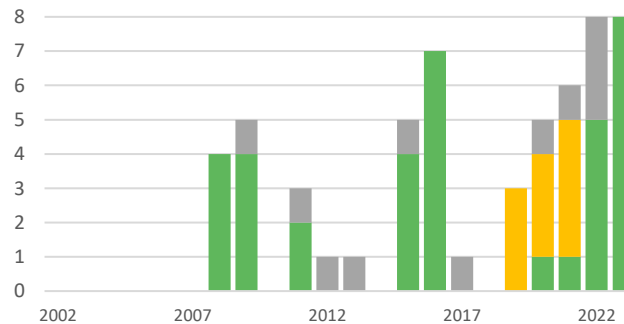
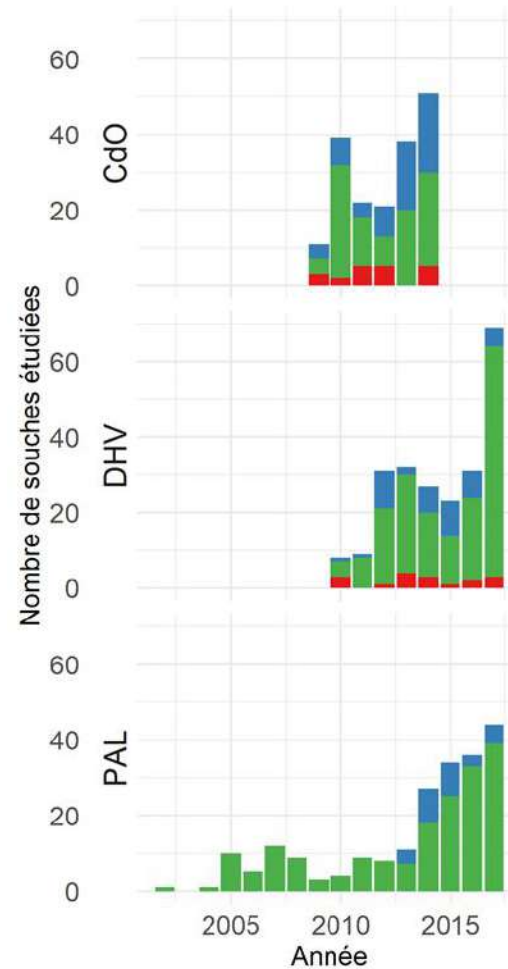
PA/Landes

167 souches
SB0821 - 6 5 5 3 11 2 5s 8
2002-2018

Corse

57 souches
SB0120 - 4 5 5 3 11 4 5 7
2007-2023

Espèce ■ Blaireau ■ Bovin ■ Sanglier ■ Porcin



Gabriela Modenesi



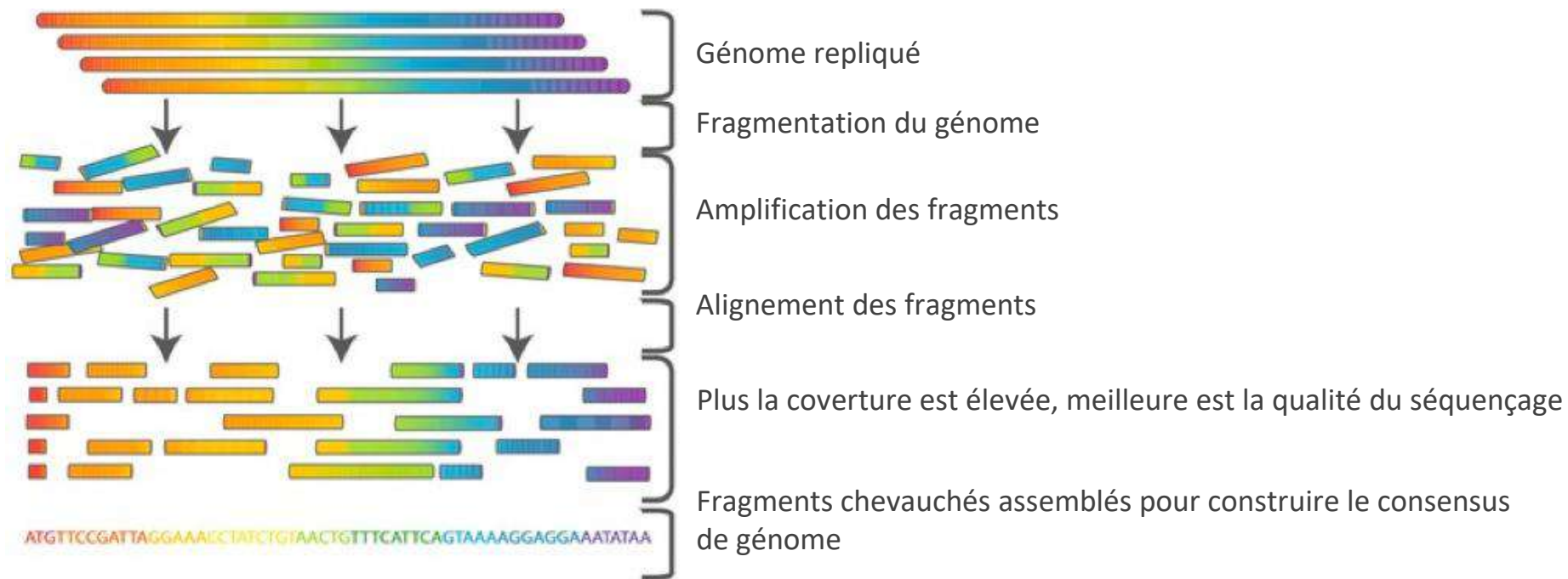
Hélène Duault



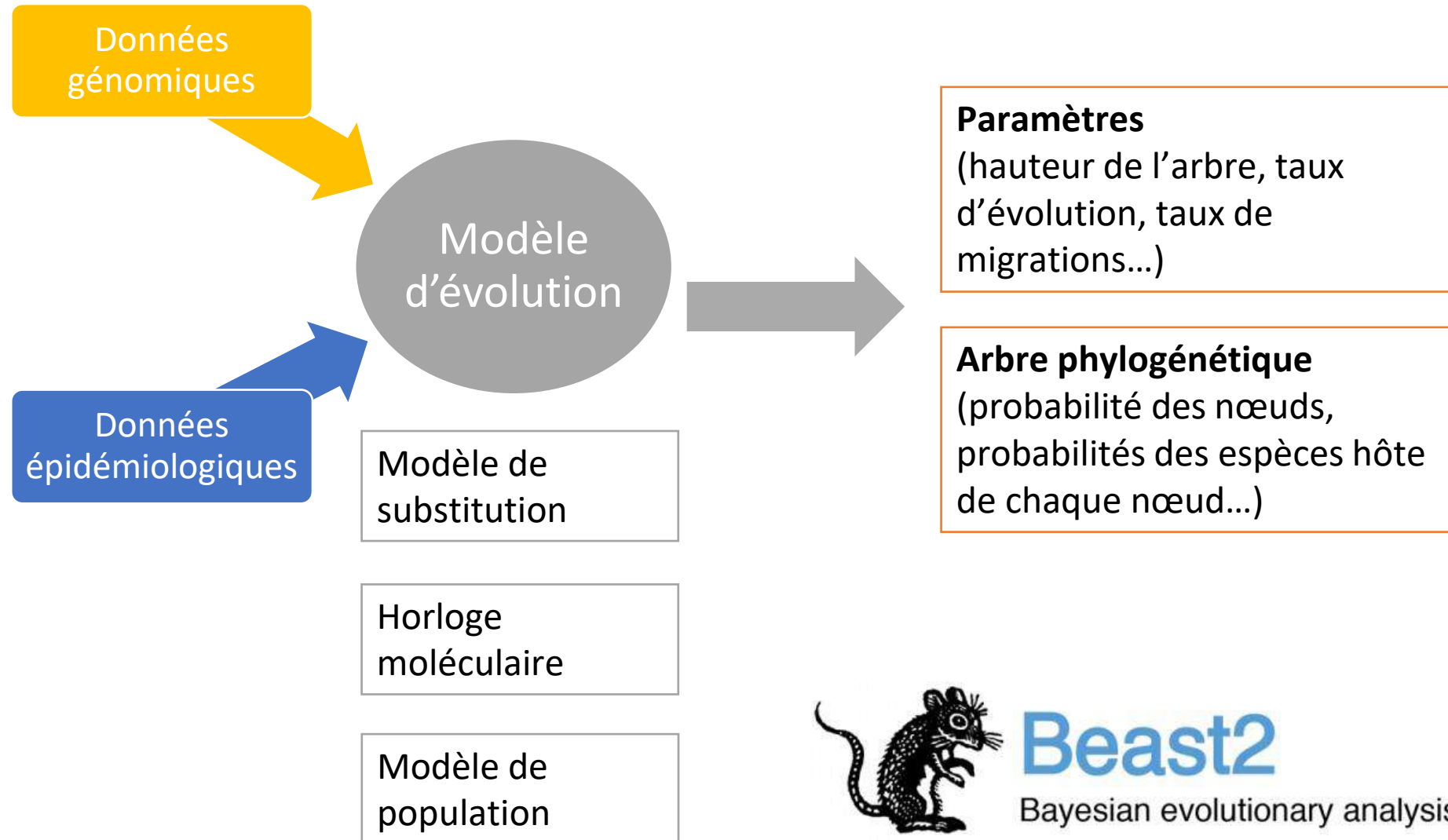
Elina Pontalba

Méthodes

- Sélection des souches : Bovins (3 max par exploitation/APDI), blaireaux, sangliers
- WGS: Illumina
- Contrôle qualité: FASTQC – Q-score >30
- Alignement et assemblage : génome de référence Mb3601 pour BCG-CO, BCG Naq et BCG-Corse et Mb0820 pour F007
- Identification des SNPs



Modélisation et inférence



Beast2

Bayesian evolutionary analysis by sampling trees

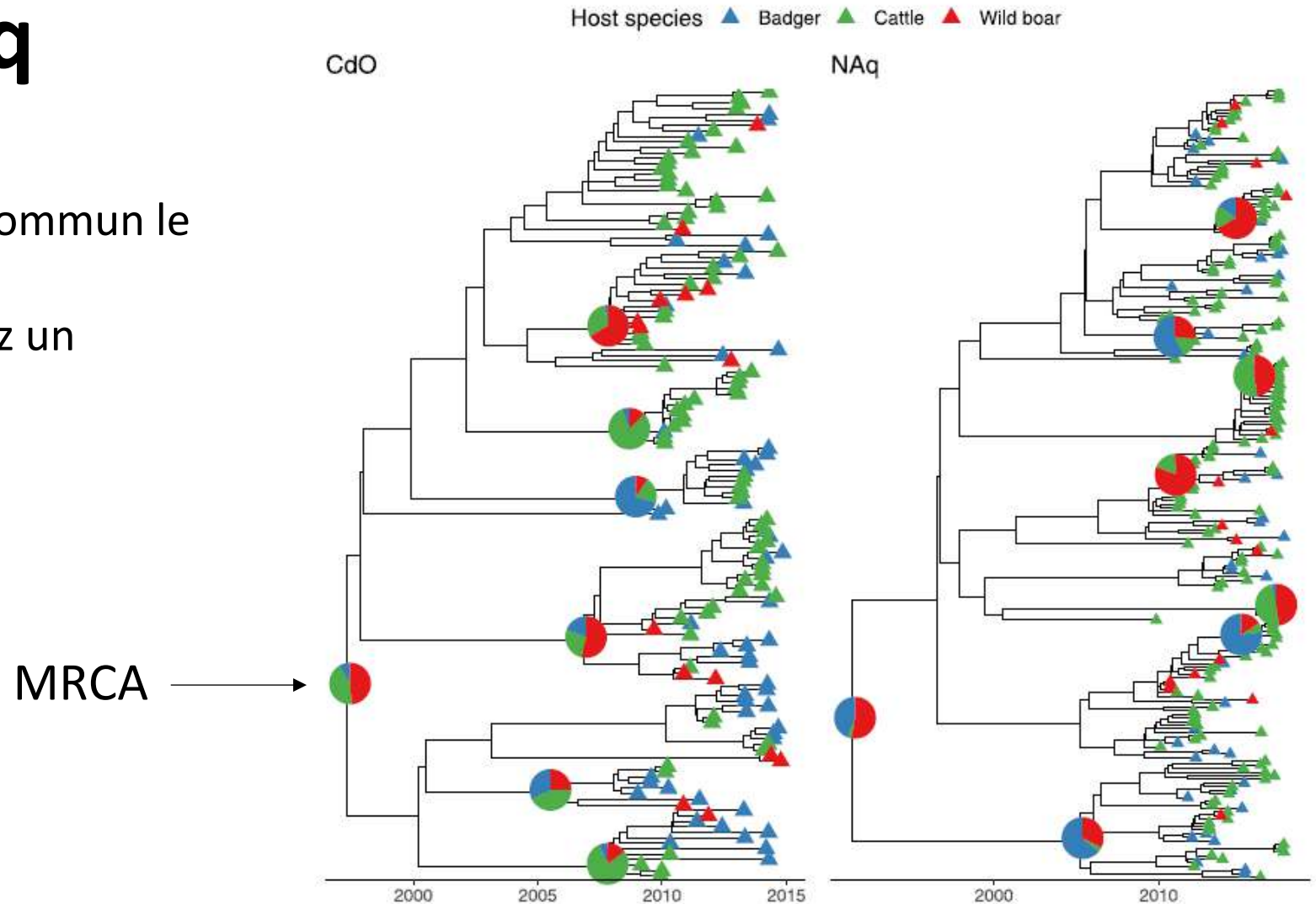
3 — Résultats et discussion



Arbre phylogénétique pour les BCG CdO et NAq

En Côte d'Or, on prédit que l'ancêtre commun le plus récent (MRCA) :

- Circulait soit chez un bovin soit chez un sanglier
- Circulait entre 1991 et 2002



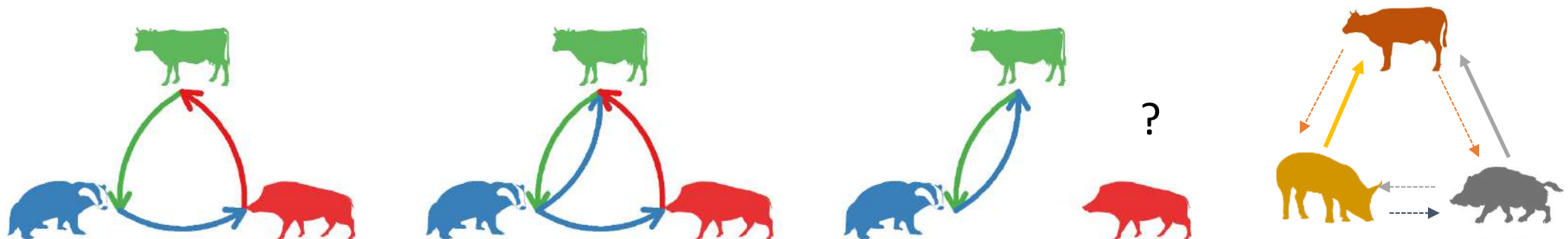
Paramètres estimés

		Côte-d'Or (CdO)	Dordogne – Haute Vienne (Naq)	PA-Landes	Corse
Données	Génotype	BCG - 5 5 4 3 11 4 5 6	BCG – 5 3 5 3 9 4 5 6	F007 – 6 5 5 3 11 2 5s 8	BCG – 4 5 5 3 11 4 5 7
	Années	2009-2014	2010-2017	2002-2017	2007-2023
	Nb souches incluses	144 (77 bv + 52 bl + 15 sg)	218 (161 bv + 41 bl + 17 sg)	167 (146 bv + 21 bl)	52 (31 bv + 11 sg + 10 pc)
	Nb SNP	123	290	171	180
Sorties	MRCA	1997 [1991 - 2002]	1991 [1979 - 2000]	1990 [1980 - 1996]	1983 [1973-1992]
	Taux d'évolution (subst/génome/an)	0,42 [0,31 ; 0,54]	0,57 [0,44 ; 0,71]	0,41 [0,29 ; 0,55]	0,805

CdO

DHV

PAL



4. Discussion



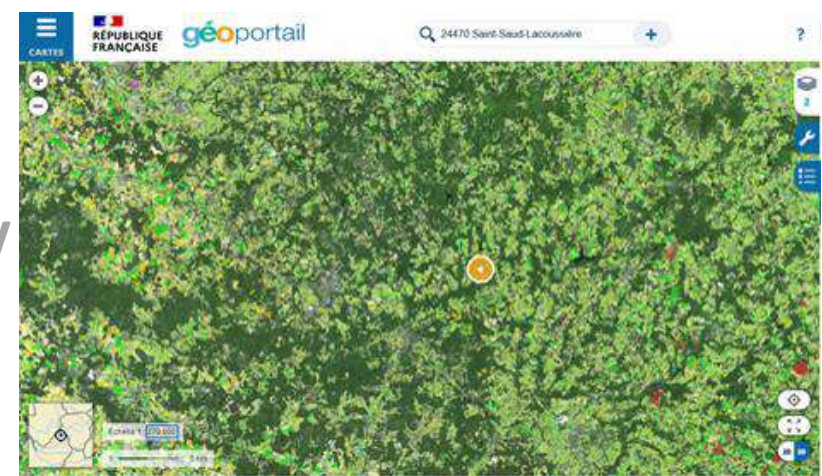
Un système multi-hôtes plus complexe

- **Système blaireaux-bovin bien documenté** par des modèles d'évolution (BIEK et al. 2012 ; CRISPELL et al. 2017 ; DUAULT et al. s. d. ; TREWBY et al. 2016) et de transmission (BOUCHEZ-ZACRIA, COURCOUL et DURAND 2018 ; BROOKS-POLLOCK et WOOD 2015)
- **Transmission BL→ BV > Transmission BV→ BL**
- **Amplification chez les BV** (transmission intra-espèce non estimée)
- Seul autre modèle à 3 espèces SALVADOR et al. 2019
- Rôle d'intermédiaire des sangliers : domaine de vie + étendu
- Rôle du blaireau diffère entre CdO et DHV

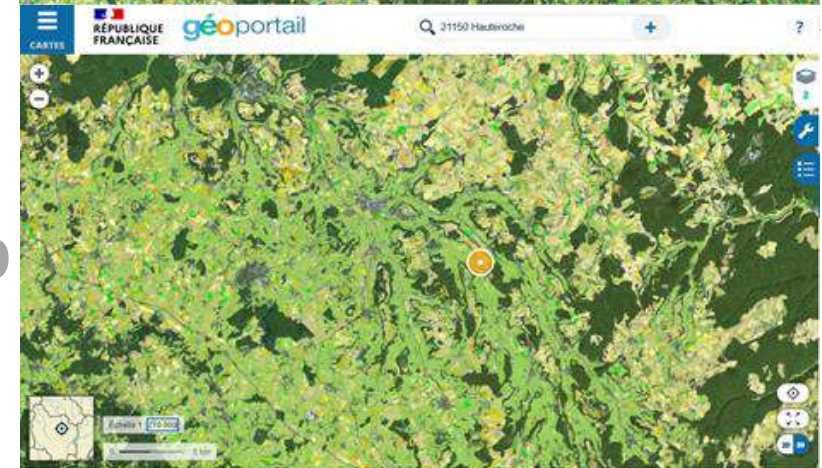
Trois systèmes différents

- Même pathogène, mêmes espèces hôte mais...
- Lignées différentes → taux de substitution différents
- Paysage:
 - ❖ + (DHV) ou – (CdO) morcelé avec plus de zones boisées → ± de contacts faune sauvage / faune domestique
 - ❖ Type de surface : prairie (DHV/CdO) vs. Maïs (PA/Landes), colza (CdO)
- Histoire de la maladie chez les bovins → Epidémie ± contrôlée en CdO vs. pas contrôlée en DHV/PA-Landes
- Mesures de contrôle contre les blaireaux (+++ en CdO ± en DHV/PA-Landes)

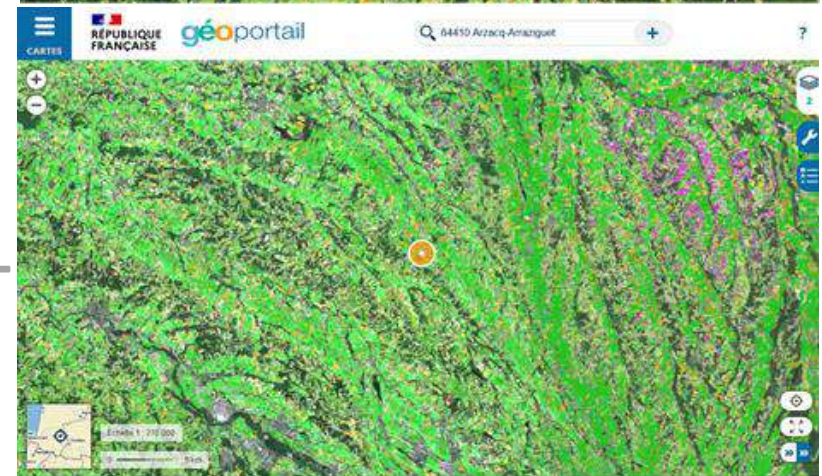
DHV



CdO



PAL



Et la Corse...

➞ Système unique d'élevage extensif



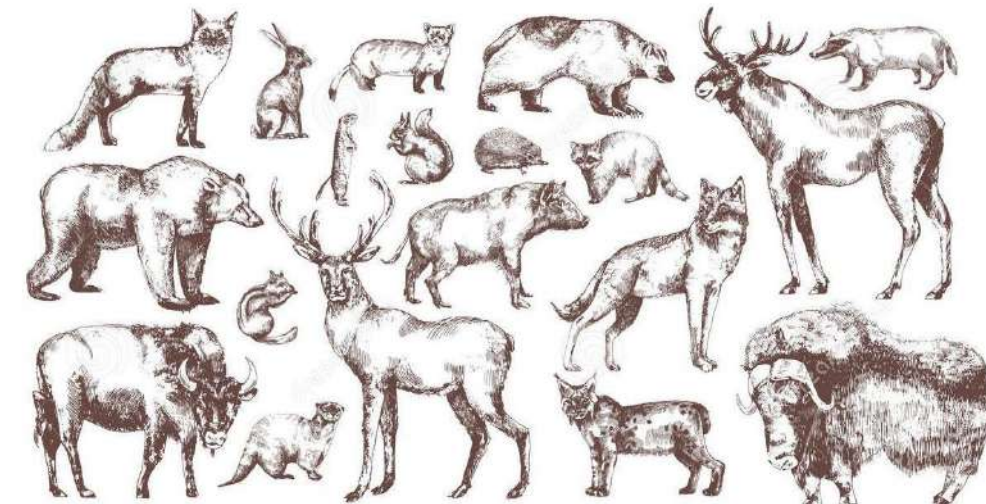
➞ Tuberculose endémique chez les suidés (porcins et sangliers)

➞ Système multi-hôte complexe: bovins féroces



Limites de l'étude

- Biais d'échantillonnage
 - ❖ Sangliers non inclus en PA/Landes
 - ❖ Niveau d'exhaustivité de la surveillance dans la faune sauvage
 - ❖ Qualité des prélèvements dans la faune sauvage
- Autres espèces ??
(Chevreuil, cerf, renard, bovins féroces ...)
- Population constante
- Pas d'estimation de la transmission intra-espèce



Ce qu'il faut retenir... en général

Les résultats de modélisation **dépendent du panel de souches** étudiées. La date du MRCA et l'hôte associée changent avec le panel

Impact du biais d'échantillonnage inconnu. Sujet de thèse d'Hélène Duault.

*L'impact de ces biais pourrait notamment être significatif pour ce qui concerne l'**espèce chez laquelle aurait circulé** l'ancêtre commun des souches étudiées, ainsi que pour la **date** à laquelle il aurait circulé*

Perspectives

Le séquençage et la modélisation permettent de mieux appréhender la diversité des schémas de transmission en fonction de la zone et de la période.

Avec plus de séquençage, il est possible :

1. d'affiner les résultats, pour mieux comprendre les relations locales entre faune sauvage et faune domestique, ainsi que leur évolution dans le temps,
2. d'adapter les mesures de lutttes en fonction du contexte éco-épidémiologique.

Compléter les souches de Côte d'Or de 2015 à 2023 et département entier

Phylodynamie GB35 = Valentin Diedler

Merci pour votre attention



La mycobactérie et ses conditions de survie



Les mycobactéries : caractéristiques générales



- **Environnementales** : multiplication dans une grande variété de substrats environnementaux tels que l'eau, le sol et les plantes, qu'elles soient **libres**, associées à un **biofilm** ou à une **amibe** → **pathogènes opportunistes**

Les mycobactéries : caractéristiques générales



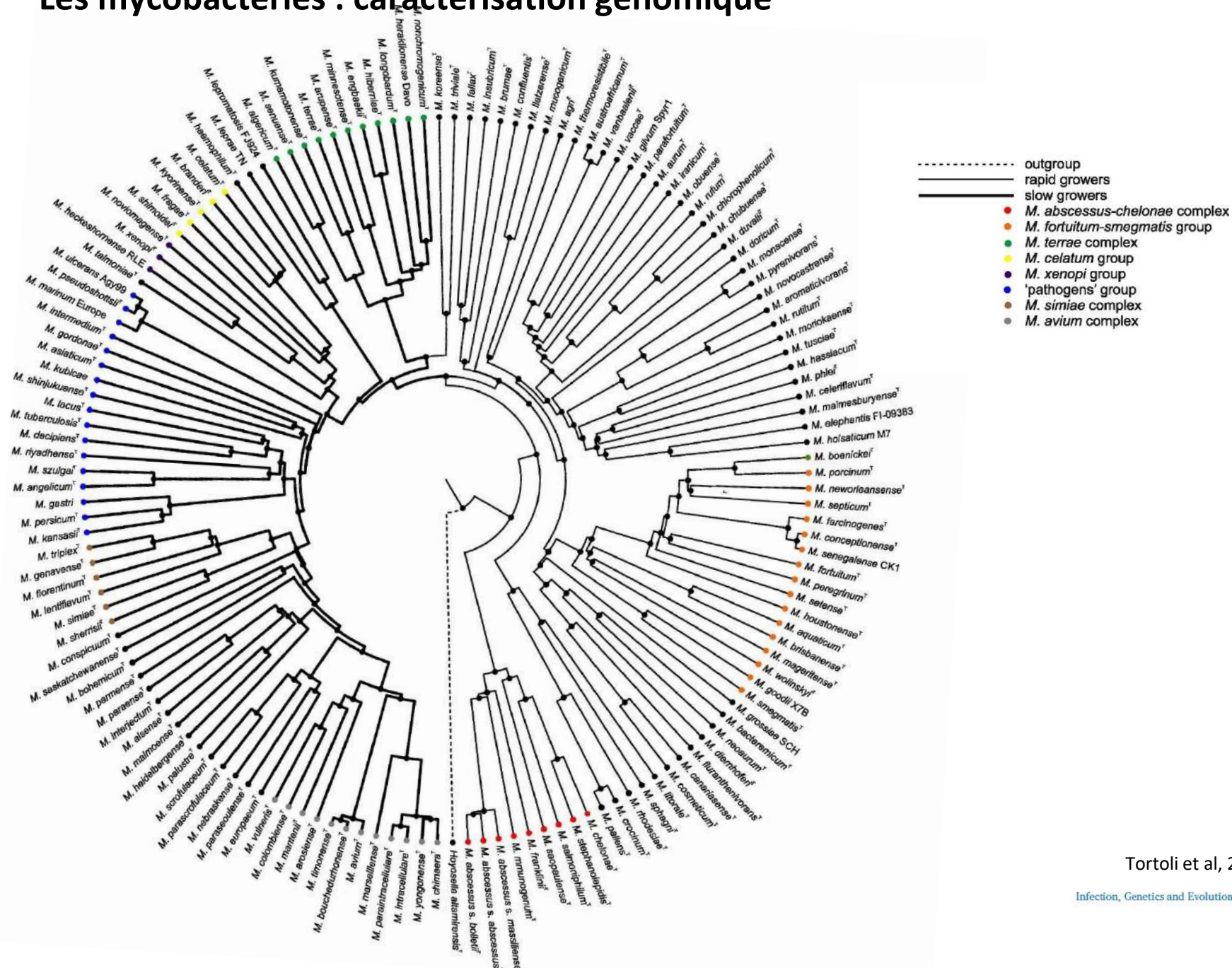
- **Environnementales** : multiplication dans une grande variété de substrats environnementaux tels que l'eau, le sol et les plantes, qu'elles soient **libres**, associées à un **biofilm** ou à une **amibe** → **pathogènes opportunistes**
- **Pathogènes intracellulaires strictes** tel que les **bacilles de la tuberculose** ou la **lèpre**

Les mycobactéries : caractéristiques générales



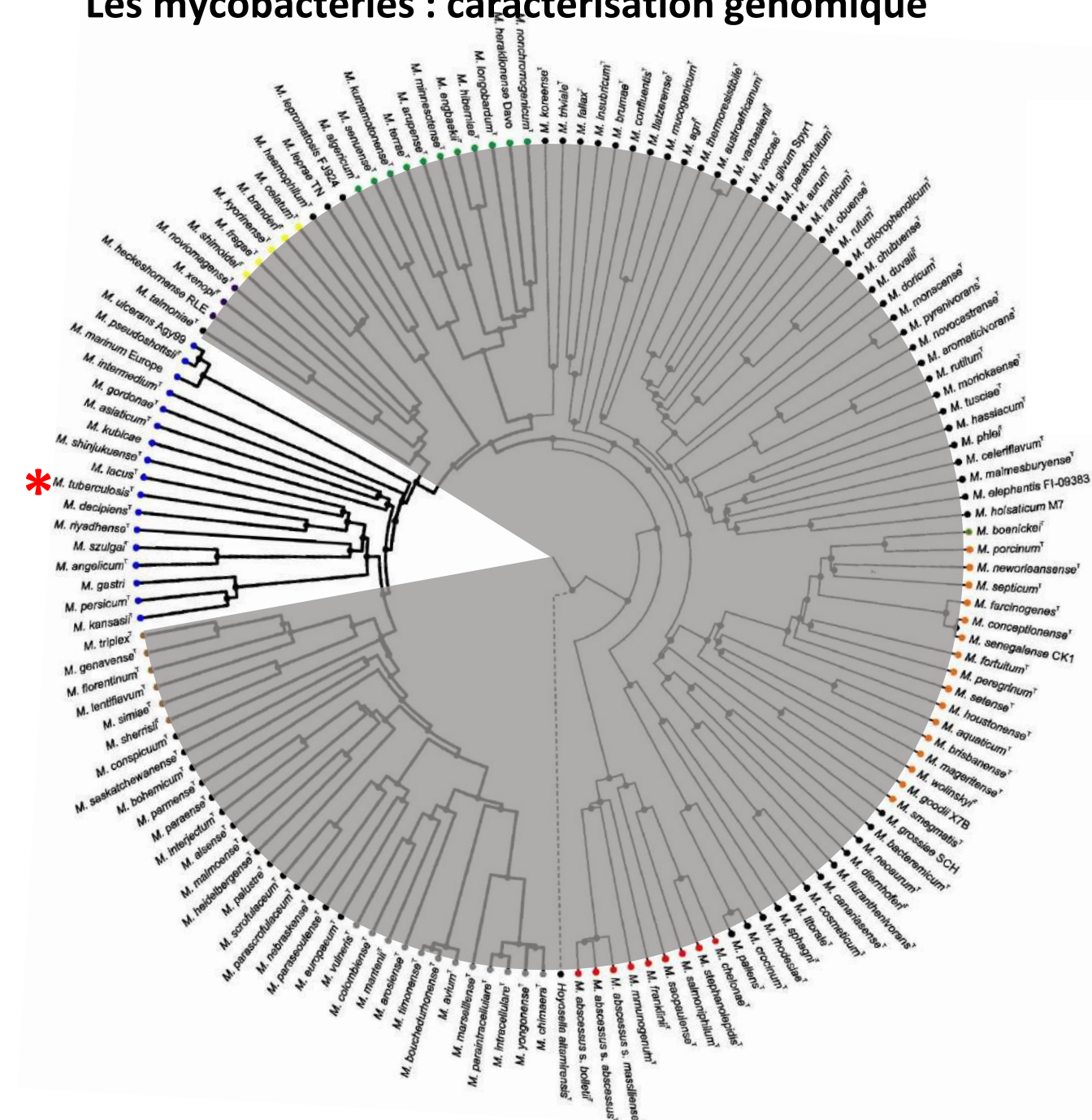
- **Environnementales** : multiplication dans une grande variété de substrats environnementaux tels que l'eau, le sol et les plantes, qu'elles soient **libres**, associées à un **biofilm** ou à une **amibe** → **pathogènes opportunistes**
- **Pathogènes intracellulaires strictes tel que les bacilles de la tuberculose ou la lèpre**
- **Leur parois cellulaire a une teneur élevée en lipides** → résistance aux acides, dessiccation et la plupart des désinfectants, ainsi que leur croissance lente et le caractère hydrophobe

Les mycobactéries : caractérisation génomique



Tortoli et al, 2017

Les mycobactéries : caractérisation génomique

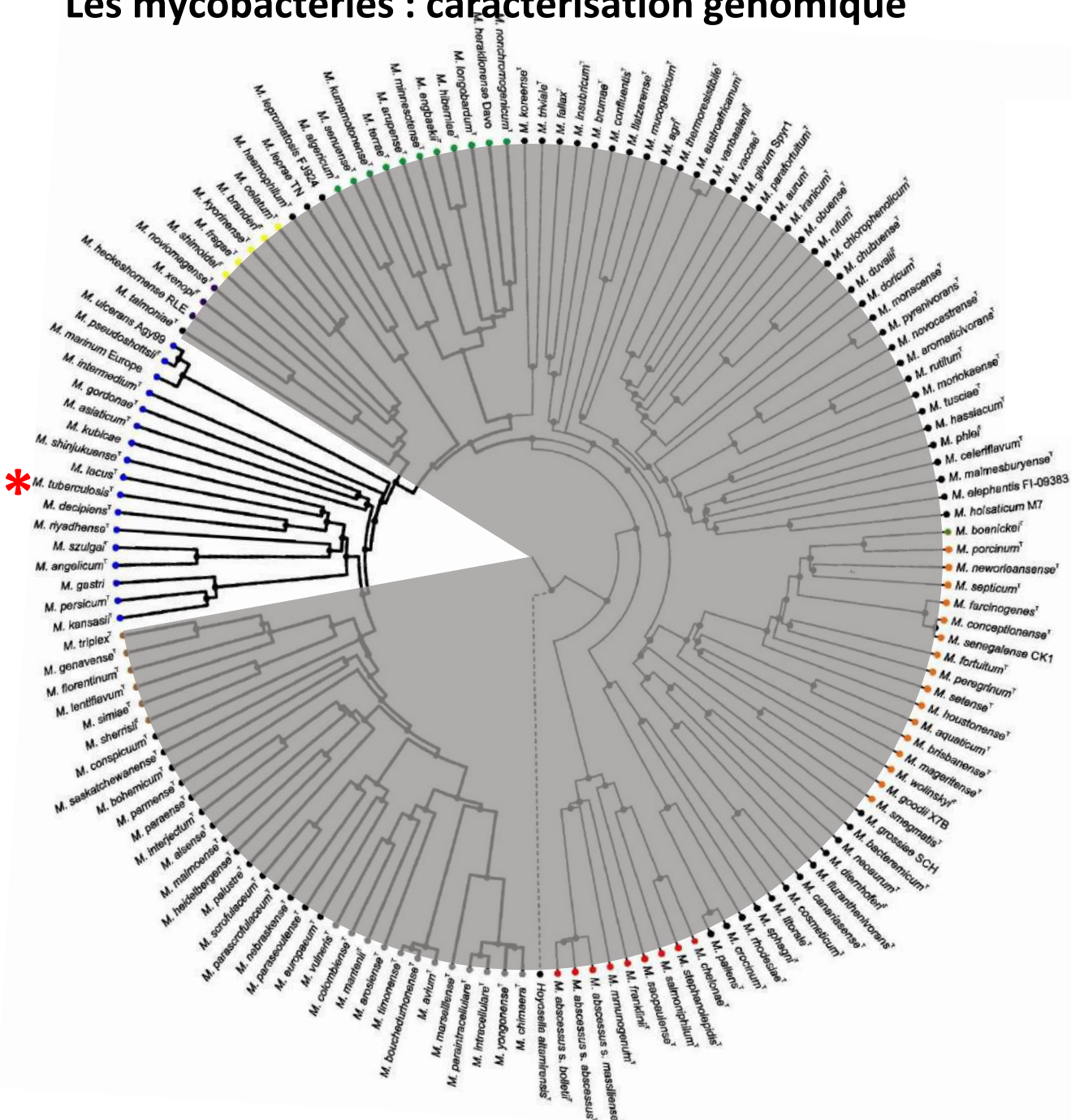


Les mycobactéries tuberculeuses * (MTBC) ont évolué à partir des non tuberculeuses (NTM) sur la base de **délétions génomiques** simultanées et de l'acquisition de gènes par transfert horizontal de gènes → **pathogènes spécialisés**

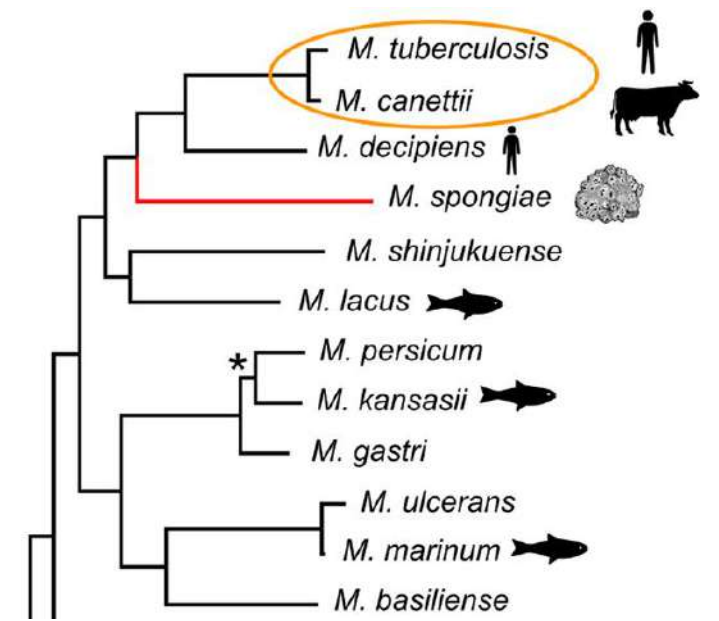
Tortoli et al, 2017

Infection, Genetics and Evolution 56 (2017) 19–25

Les mycobactéries : caractérisation génomique



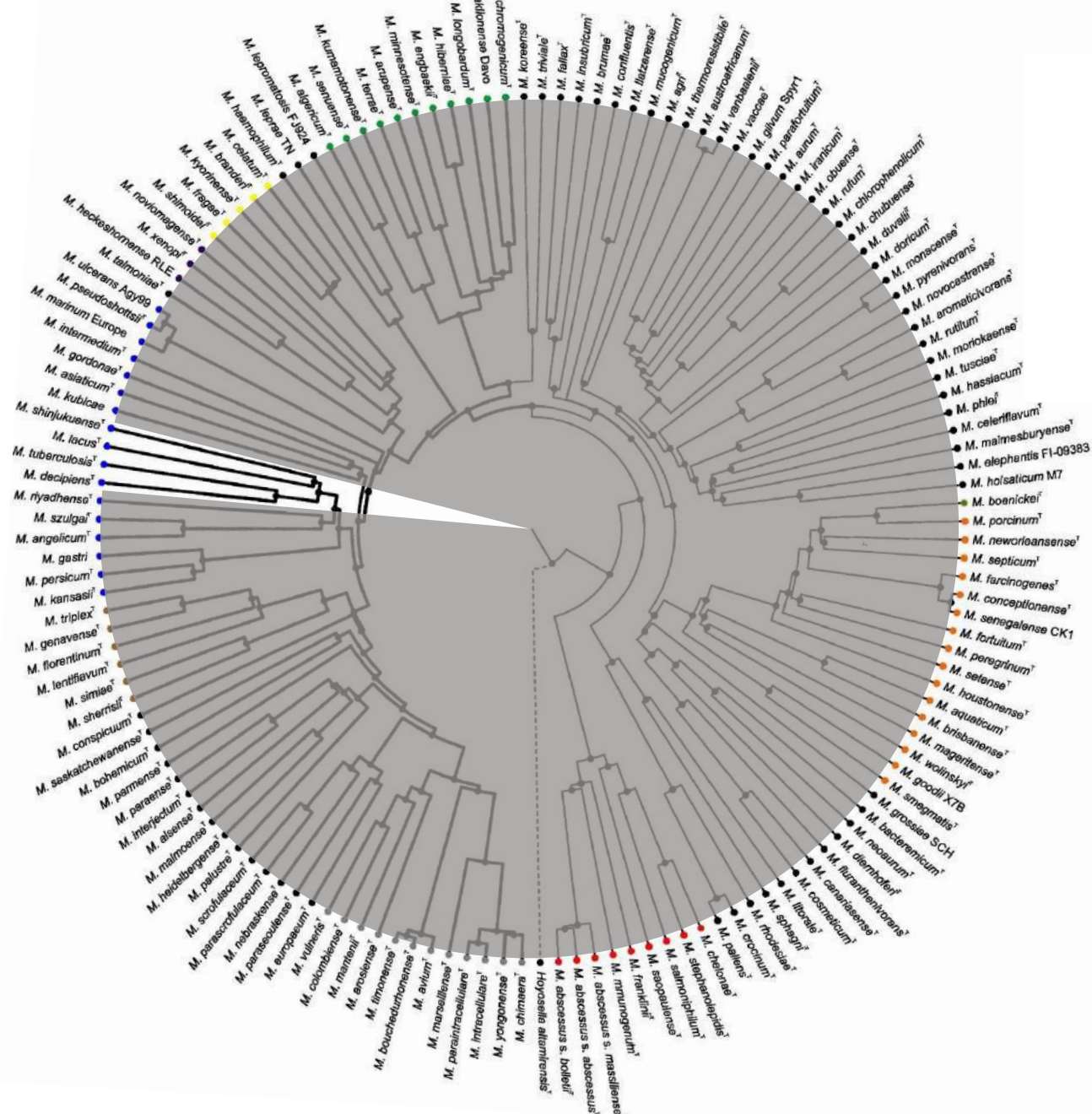
- outgroup
- rapid growers
- slow growers
- *M. abscessus-chelonae* complex
- *M. fortuitum-smegmatis* group
- *M. terrae* complex
- *M. celatum* group
- *M. xenopi* group
- 'pathogens' group
- *M. simiae* complex
- *M. avium* complex



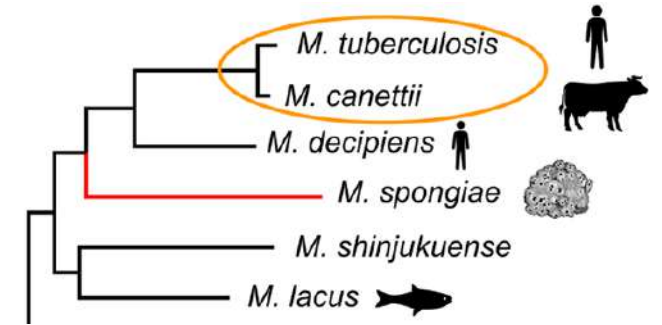
Pidot et al PLoS Pathog. 2024

Tortoli et al, 2017

Les mycobactéries : caractérisation génomique



- outgroup
- rapid growers
- slow growers
- M. abscessus-chelonae* complex
- M. fortuitum-smegmatis* group
- M. terrae* complex
- M. celatum* group
- M. xenopi* group
- 'pathogens' group
- M. simiae* complex
- M. avium* complex



Pidot et al PLoS Pathog. 2024

Tortoli et al, 2017

Infection, Genetics and Evolution 56 (2017) 19-25

Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Dès le début du 20^{ème} siècle, analyses et détection de bacilles tuberculeux dans effluents de sanatoria en Allemagne et au Royaume-Uni : rôle potentiel de l'environnement dans l'épidémiologie des mycobactéries tuberculeuses.



Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Excrétion de bovins infectés :



Mucus nasal et trachéal, fèces d'animaux infectés naturellement/expérimentalement.

Le délai d'excrétion après l'inoculation de plusieurs semaines, quantité de bacilles excrétés proportionnels à la dose infectieuse utilisée.

L'excrétion fécale apparaît peu fréquente et intermittente chez les bovins

ORIGINAL ARTICLE

Assessment of the frequency of *Mycobacterium bovis* shedding in the faeces of naturally and experimentally TB infected cattle

Si Palmer¹ | Gareth A. Williams¹ | Colm Brady² | Eoin Ryan² |
Karolina Malczewska³ | Tim J. Bull⁴ | Philip J. Hogarth¹ | Jason Sawyer¹ 

¹Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency (Weybridge), Addlestone, UK

²Department of Agriculture, Food and the Marine (DAFM), Celbridge, Ireland

³Official Veterinarian, Eville and Jones Ltd, Thorpe Park Gardens, Leeds, UK

⁴St. George's University of London, London, UK

Correspondence

Jason Sawyer, Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency (Weybridge), Addlestone, UK.
Email: jason.sawyer@apha.gov.uk

Funding information

Department for Environment, Food and Rural Affairs, Grant/Award Number: SE3313

Abstract

Aims: To assess the prevalence of *Mycobacterium bovis* bacilli in faecal samples of tuberculous cattle, and to better understand the risk of environmental dissemination of bovine tuberculosis (TB) through the spreading of manure or slurry.

Methods and Results: Faecal samples were collected from 72 naturally infected cattle with visible lesions of TB that had reacted to the tuberculin skin test and 12 cattle experimentally infected with *M. bovis*. These were examined by microbial culture and PCR to assess the presence of *M. bovis* bacilli. There were no positive cultures from any naturally infected test reactor animal. A single *M. bovis* colony was cultured from a faecal sample from one of the experimentally infected animals. A single PCR positive result was obtained from the faecal sample of one naturally infected test reactor.

Conclusions: The prevalence of *M. bovis* in the faecal samples of TB-infected cattle was extremely low.

Significance and Impact of the Study: The results suggest that the risk of spreading TB through the use of slurry or manure as an agricultural fertilizer is lower than that suggested in some historical literature. The results could inform a reconsideration of current risk assessments and guidelines on the disposal of manure and slurry from TB-infected herds.

. *bovis*?



ement/expérimentalement.

nes, quantité de bacilles

e chez les bovins

Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Chez le blaireau infecté naturellement ou expérimentalement, excrétion 25-50 % des animaux par voie respiratoire, urinaire et fécale, ainsi que par la suppuration d'abcès résultant de morsures
Excrétion intermittente.



Individus « **super excréteurs** » (Payne 2014) décrits : excrétion persistante dans le temps ou par l'excrétion du bacille par plusieurs voies simultanément.

Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Chez le blaireau infecté naturellement ou expérimentalement, excrétion 25-50 % des animaux par voie respiratoire, urinaire et fécale, ainsi que par la suppuration d'abcès résultant de morsures
Excrétion intermittente.



Individus « **super excréteurs** » (Payne 2014) décrits : excrétion persistante dans le temps ou par l'excrétion du bacille par plusieurs voies simultanément.

Chez le sanglier, excrétion voie orale, nasale, fécale et urinaire.

En Espagne, l'excrétion par au moins une des voies a été mise en évidence par PCR sur 30 % des sangliers analysés → associée à une maladie généralisée.

Portugal, 80 % excrétion par au moins une voie et 13 « **super excréteurs** ».



Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Chez le blaireau infecté naturellement ou expérimentalement, excrétion 25-50 % des animaux par voie respiratoire, urinaire et fécale, ainsi que par la suppuration d'abcès résultant de morsures
Excrétion intermittente.



Individus « **super excréteurs** » (Payne 2014) décrits : excrétion persistante dans le temps ou par l'excrétion du bacille par plusieurs voies simultanément.

Chez le sanglier, excrétion voie orale, nasale, fécale et urinaire.

En Espagne, l'excrétion par au moins une des voies a été mise en évidence par PCR sur 30 % des sangliers analysés → associée à une maladie généralisée.

Portugal, 80 % excrétion par au moins une voie et 13 « **super excréteurs** ».



Chez les cervidés, différentes études ont montré excrétion sporadique dans les mucus nasal, oro-pharyngé et trachéal, ainsi que dans les matières fécales lors d'infections naturelles ou expérimentales.

Excrétion intermittente dès les premiers stades de la maladie.



Comment l'environnement peut-il être contaminé par *M. bovis*?

Les carcasses d'animaux infectés peuvent constituer une source d'infection directe pour les animaux charognards qui s'en nourrissent, mais également une source de contamination indirecte pour les bovins qui pâturent sur le site de décomposition de la carcasse.

l'abandon des viscères ou leur ensevelissement représente également un risque pour les animaux charognards → collecte et l'élimination des viscères des espèces sensibles obligatoires dans les zones touchées par la tuberculose bovine.



Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?



Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Méthodes pour investiguer la persistance de *M. bovis* dans les matrices environnementales

1. Méthodes basées sur la **bactériologie** et la **biologie moléculaire** pour détecter *M. bovis* dans des échantillons de terrain en conditions réelles
2. Mise en place de micro- et/ou mésocosmes environnementaux *in vitro* dans lesquels *M. bovis* peut être introduit/inoculé, potentiellement en présence d'organismes hôtes vertébrés et/ou invertébrés

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Méthodes pour investiguer la persistance de *M. bovis* dans les matrices environnementales

1. Méthodes basées sur la **bactériologie** et la **biologie moléculaire** pour détecter *M. bovis* dans des échantillons de terrain en conditions réelles

- Bactériologie très difficile car matrices environnementales trop complexes microbiologiquement et mycos croissance lente → bacille vivants, possibilité de déduire « infectiosité » matrice
- Détection moléculaire très sensible mais l'ADN de bactéries mortes très résistante dans l'environnement → pas possible de déduire capacité infectieuse de la matrice

2. Mise en place de micro- et/ou mésocosmes environnementaux *in vitro* dans lesquels *M. bovis* peut être introduit/inoculé, potentiellement en présence d'organismes hôtes vertébrés et/ou invertébrés

- Difficile de mimer la complexité d'un vrai prélèvement environnementale et les multiples variables temporaires

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Mycobacterium bovis capables de survivre dans les fèces, les effluents, le sol et les divers excréta animaux de **quelques jours à quelques mois, voire jusqu'à deux ans**.

Pour quoi ces variations?

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Mycobacterium bovis capables de survivre dans les fèces, les effluents, le sol et les divers excréta animaux de **quelques jours à quelques mois, voire jusqu'à deux ans**.

Pour quoi ces variations?

Nombreuses conditions d'inoculation des matrices expérimentales (concentration de l'inoculum, souche utilisée : *M. bovis* ou *M. bovis* BCG, origine de l'inoculum : culture ou broyat de lésions)

Grande variété des matrices inoculées (matières fécales, urine, mucus, organes, sol, eau, *etc.*) et des conditions environnementales testées (conditions contrôlées de laboratoire ou exposition aux conditions climatiques)

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Mycobacterium bovis capables de survivre dans les fèces, les effluents, le sol et les divers excréta animaux de **quelques jours à quelques mois, voire jusqu'à deux ans**.

Pour quoi ces variations?

Nombreuses conditions d'inoculation des matrices expérimentales (concentration de l'inoculum, souche utilisée : *M. bovis* ou *M. bovis* BCG, origine de l'inoculum : culture ou broyat de lésions)

Grande variété des matrices inoculées (matières fécales, urine, mucus, organes, sol, eau, *etc.*) et des conditions environnementales testées (conditions contrôlées de laboratoire ou exposition aux conditions climatiques)

Température, l'exposition aux UV et l'humidité primordiaux dans la persistance de *M. bovis* quel que soit le substrat analysé

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Dans les fèces d'animaux, *M. bovis* survit **jusqu' à 2 ans** dans les bouses de bovins en conditions de laboratoire et de **14 jours à 6 mois** lorsque les fèces sont + ou - exposées dans les pâtures.

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Dans les fèces d'animaux, *M. bovis* survit **jusqu' à 2 ans** dans les bouses de bovins en conditions de laboratoire et de **14 jours à 6 mois** lorsque les fèces sont + ou - exposées dans les pâtures.

Dans les effluents d'élevages contaminés, il a été montré que *M. bovis* survivait de **4 mois** dans du lisier en conditions de laboratoire et jusqu'à **171 jours** dans du lisier stérilisé conservé à température ambiante et à l'obscurité.

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Dans les fèces d'animaux, *M. bovis* survit **jusqu' à 2 ans** dans les bouses de bovins en conditions de laboratoire et de **14 jours à 6 mois** lorsque les fèces sont + ou - exposées dans les pâtures.

Dans les effluents d'élevages contaminés, il a été montré que *M. bovis* survivait de **4 mois** dans du lisier en conditions de laboratoire et jusqu'à **171 jours** dans du lisier stérilisé conservé à température ambiante et à l'obscurité.

La bactérie peut également survivre entre **2 et 6 semaines dans des lésions tuberculeuses** macroscopiques de poumons et noeuds lymphatiques de buffle, survie optimale étant observée en hiver dans des situations ombragées et humides.

Résultats identiques observés pour des échantillons d'urine (3 jours en été vs 28 jours en hiver)

Des sécrétions bronchiques (7 jours vs 70 jours)

Combien de temps la bactérie peut survivre dans l'environnement?

Dans les fèces d'animaux, *M. bovis* survit **jusqu' à 2 ans** dans les bouses de bovins en conditions de laboratoire et de **14 jours à 6 mois** lorsque les fèces sont + ou - exposées dans les pâtures.

Dans les effluents d'élevages contaminés, il a été montré que *M. bovis* survivait de **4 mois** dans du lisier en conditions de laboratoire et jusqu'à **171 jours** dans du lisier stérilisé conservé à température ambiante et à l'obscurité.

La bactérie peut également survivre entre **2 et 6 semaines dans des lésions tuberculeuses** macroscopiques de poumons et noeuds lymphatiques de buffle, survie optimale étant observée en hiver dans des situations ombragées et humides.

Résultats identiques observés pour des échantillons d'urine (3 jours en été vs 28 jours en hiver)

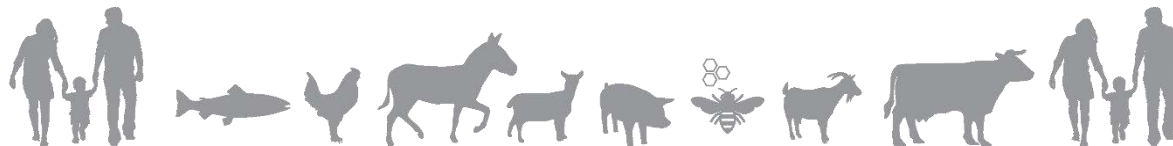
Des sécrétions bronchiques (7 jours vs 70 jours)

La virulence du bacille a été confirmée par injection à des cobayes dans des fèces de bovins naturellement contaminées après 178 jours d'exposition dans une pâture et après 12 mois d'incubation en conditions de laboratoire



SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DE LA COTE D'OR

- *Sébastien Girard - Maria-Laura Boschioli - Lorraine Michelet - Alain Hartman*





**PRÉFET
DE LA RÉGION
BOURGOGNE-
FRANCHE-COMTÉ**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Evolution de la situation épidémiologique et de la surveillance vis-à-vis de la tuberculose bovine en Côte d'Or

Surveillance événementielle

- **Bovins, à l'abattoir** :

inspection des carcasses / tout BV
abattu

↔ recherche de lésions évocatrices
de tuberculose

- **Sur la faune sauvage** : sangliers,
cervidés et blaireaux

- **Chasse** : recherche de lésion
suspecte / examen de carcasse
sgl ou cervidé

- **SE renforcée** :

- Tous sgl et cervidés morts ou
mourants (SAGIR)
- Blaireaux morts au bord des
routes

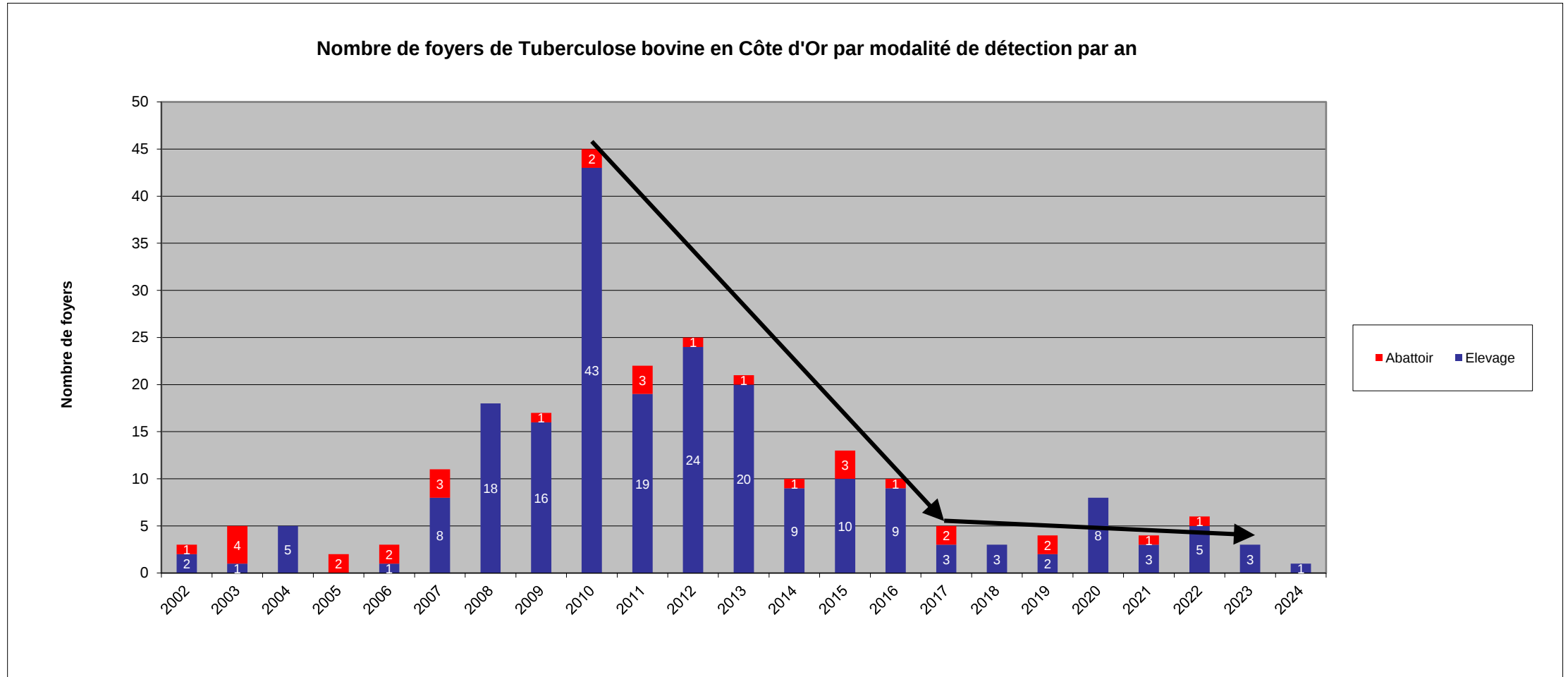
➔ Surveillance sur tout le département, en continu

➔ PCR : recherche directe de *M. bovis*

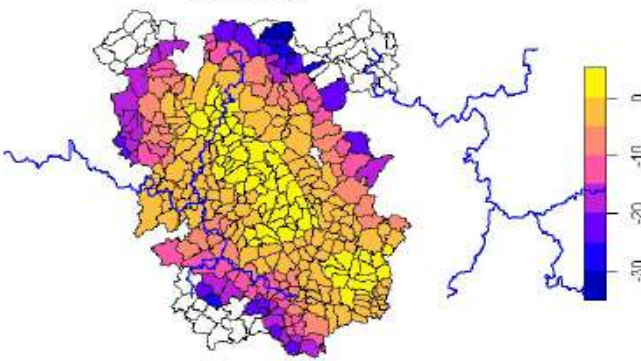
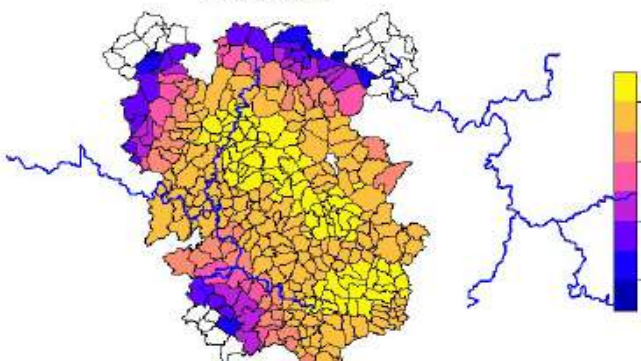
Surveillance programmée

- **En élevage bovin** : campagnes de prophylaxie (IDC)
 - De **tout le département** / BV > 12 mois
 - A surveillance basée sur évaluation du risque
 - **Zone de prophylaxie renforcée (ZPR)** : BV > 18 mois
 - **Elevages à risque** : surveillance renforcée (BV > 12 mois, IFg)
 - Implication des vétérinaires et éleveurs
 - **Sur la faune sauvage (Sylvatub)**
 - **Sangliers** : analyse sur un échantillon (chasse) en **zone à risque (ZR)**
 - PCR
 - sérologie depuis 2018/2019 ⇔ contamination de l'environnement
 - **Blaireaux** : PCR / échantillon de blaireaux piégés (+ tir)
 - **Cerfs** : **arrêt** surveillance PCR depuis saison cynégétique 2016/2017
 - Implication des chasseurs, piégeurs, lieutenants de l'ouvèterie
- ➔ Surveillances complémentaires

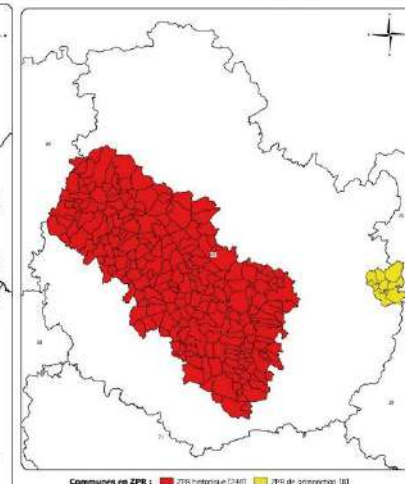
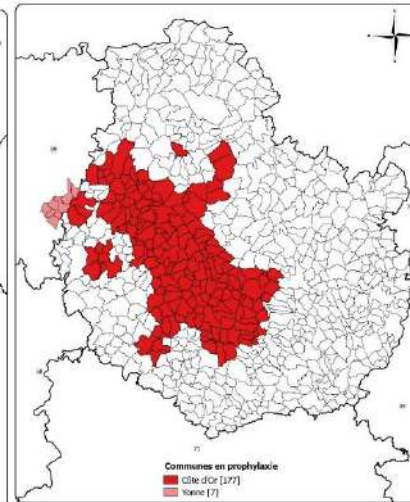
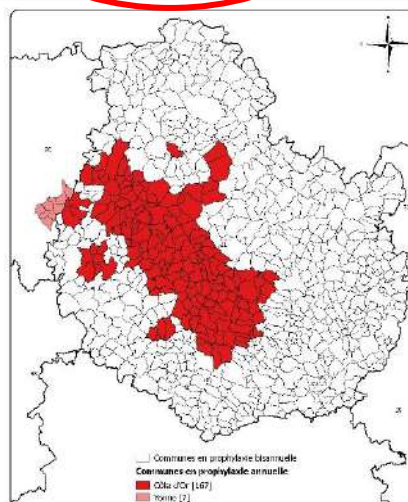
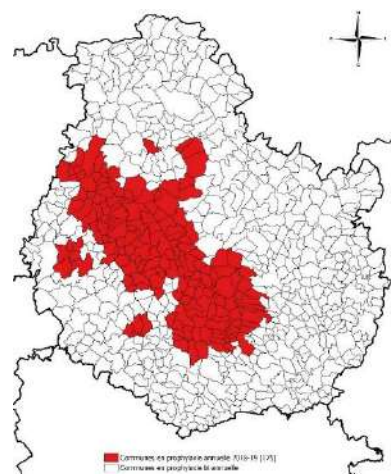
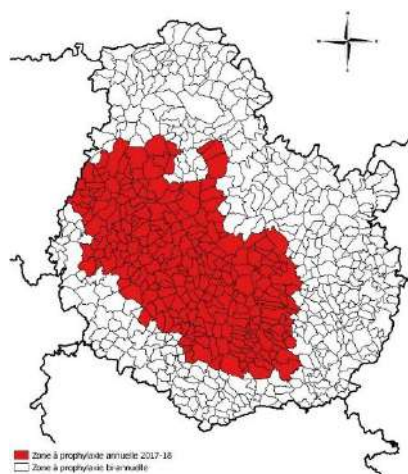
Evolution de la situation épidémiologique



- Diminution du nombre de foyers bovins de 2010 à 2017

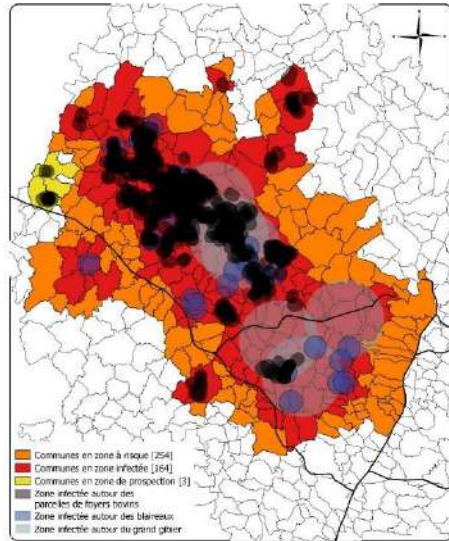
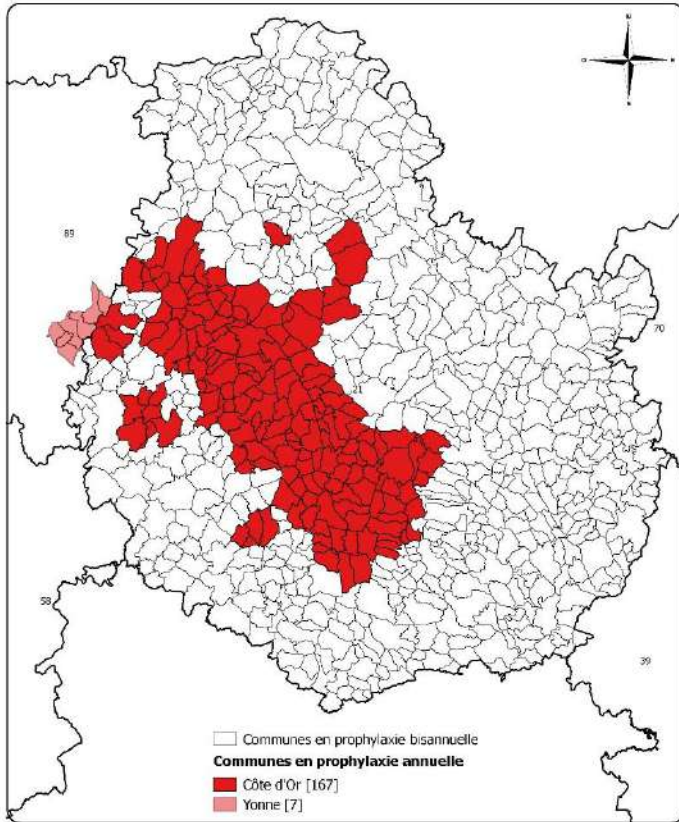
Période 2016-2021 avec année de référence 2018		Période 2012-2017 avec année de référence 2015	
N= 1729 55 INFECTES 1674 NON INFECTES		N= 2456 114 INFECTES 2342 NON INFECTES	
Sur les 340 communes qui ont été classées infectées au moins une fois entre 2012 et 2021, 138 sont identifiées comme les plus infectées (log du risque-relatif supérieur à la médiane = -2.99)		Sur les 340 communes qui ont été classées infectées au moins une fois entre 2012 et 2021, 137 sont identifiées comme les plus infectées (log du risque-relatif supérieur à la médiane = -1.36)	
RisqueRelatif 		RisqueRelatif 	
		Log-risque relatif moyen de chaque commune (log du rapport de la densité de probabilité d'échantillonner un animal positif par la densité de probabilité d'échantillonner un animal négatif) – méthode de Kelsall et Diggle (1995)	
			
Communes identifiées comme les plus infectées (log du risque-relatif supérieur à la médiane) parmi les 340 communes classées infectées au moins une fois entre 2012 et 2021			
Sur cette période, la prévalence de la tuberculose augmente de 0.1% par an (SE 0.4%) dans les communes les plus infectées du noyau. La précision n'étant pas bonne, on peut plutôt conclure à une certaine stabilité de la prévalence sur cette période. La prévalence moyenne en 2018 observée dans ces communes les plus infectées est de 5.6% (SE=0.7%).		Sur cette période, la prévalence de la tuberculose diminue de 2.7% par an (SE 0.7%) dans les communes les plus infectées du noyau. La prévalence moyenne en 2015 observée dans ces communes les plus infectées est de 10.5% (SE=1.1%).	

Année	2017-18	2018-19	2019-20	2020-21	2021-22
ZPR	280 communes BV > 12 mois	175 communes BV > 18 mois	167 communes BV > 18 mois	177 communes BV > 18 mois	248 + 8 communes BV > 18 mois
Hors ZPR	~ ½ cheptels BV > 12 mois	~ ½ cheptels BV > 24 mois	~ ½ cheptels BV > 24 mois	ARRÊT	ARRÊT
Nb cheptels	> 1100 cheptels	< 1000 cheptels	< 1000 cheptels	~ 700 cheptels	~ 700 cheptels
ZR (ZI + Zone tampon)	275 communes SP sgl & blx	275 communes SP sgl & blx	254 communes SP sangliers	258 communes SP sangliers	248 communes SP sangliers
Zone Infectée (ZI)		119 communes	164 communes SP blaireaux	171 communes SP blaireaux	160 communes SP blaireaux
Zone de Prospection	/	/	3 communes SP blaireaux	6 communes SP blaireaux	8 communes SP blaireaux



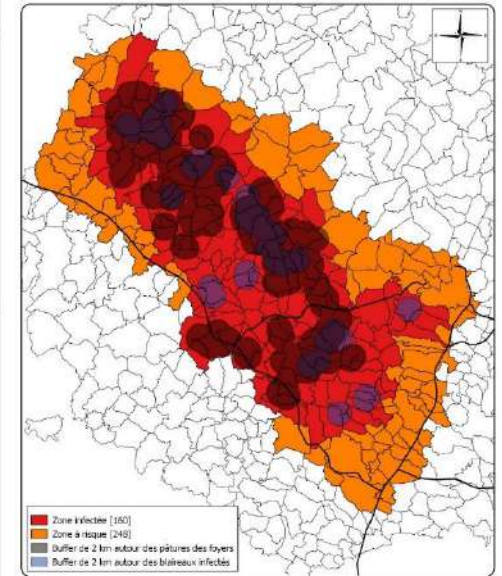
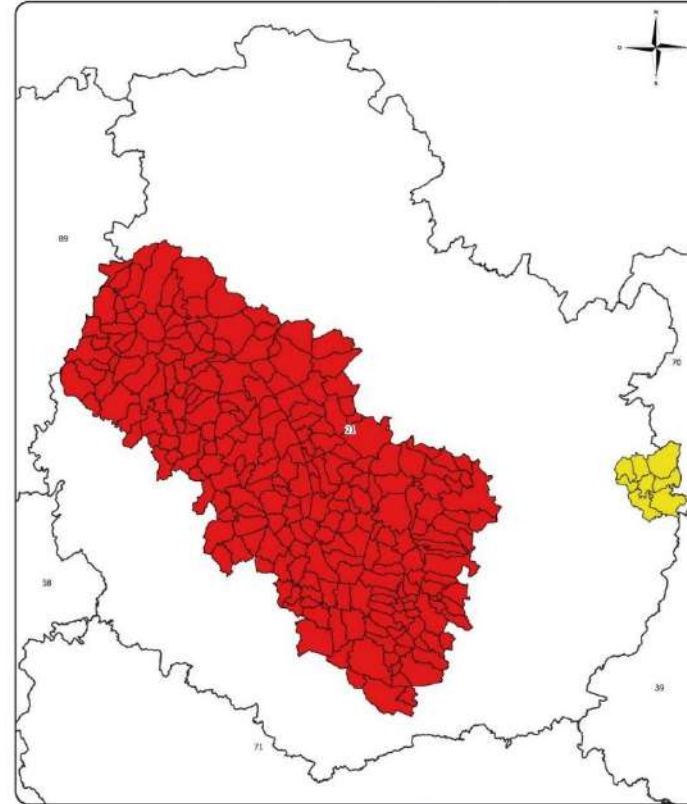
2019-2020

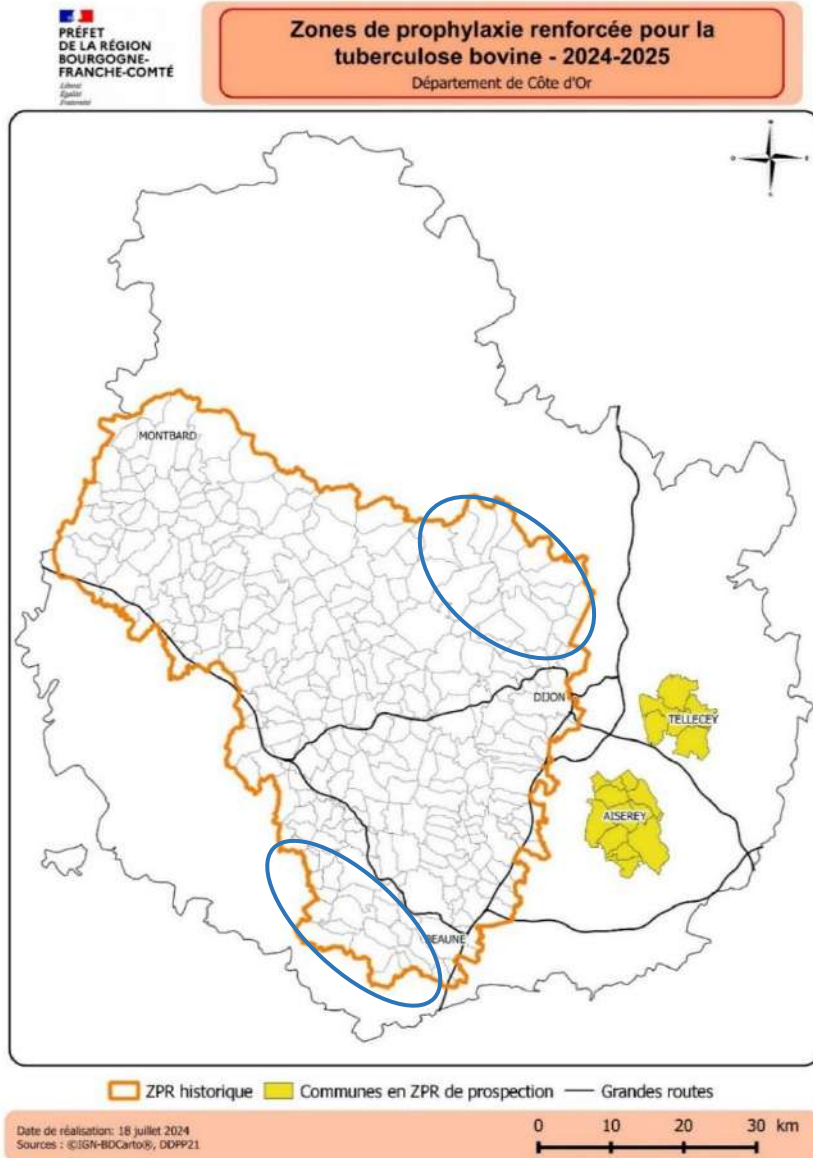
$$\text{ZPR} = \text{ZI} + \text{ZP}$$



2021-2022

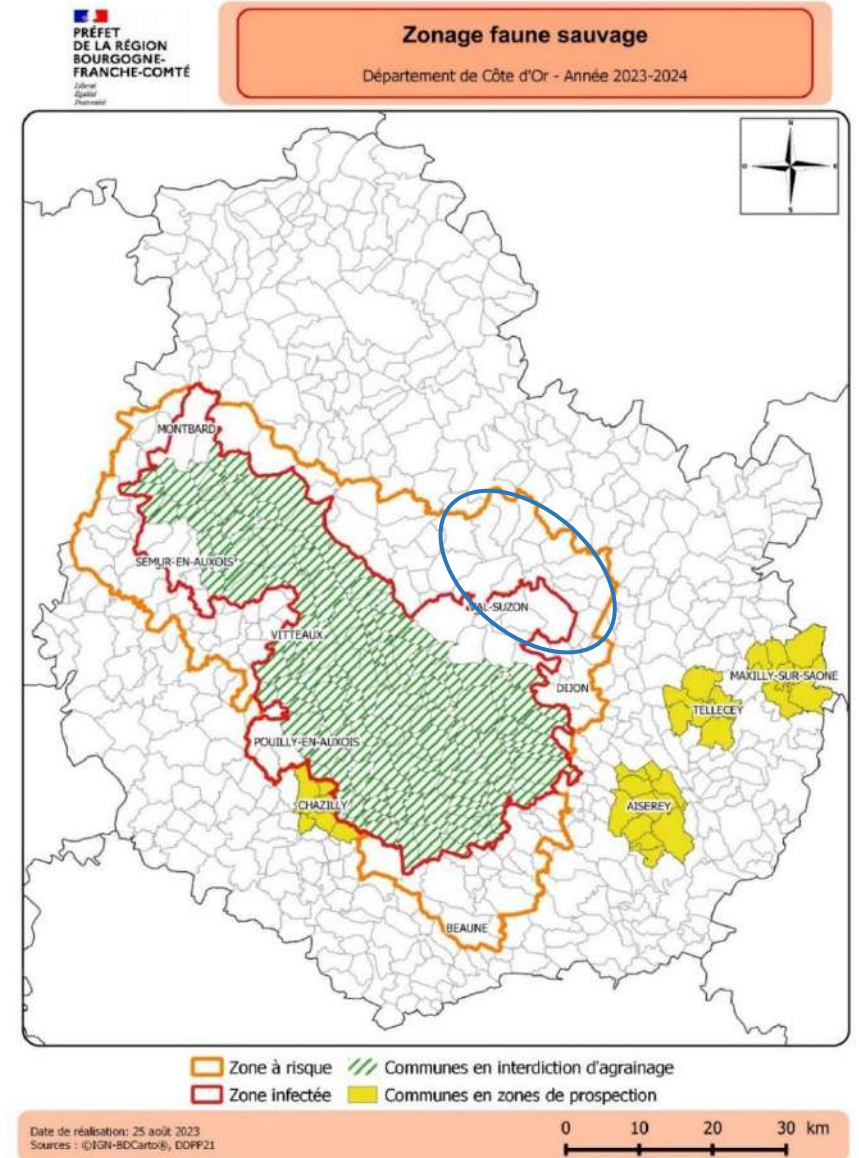
$$\text{ZPR} = \text{ZR} + \text{ZP}$$



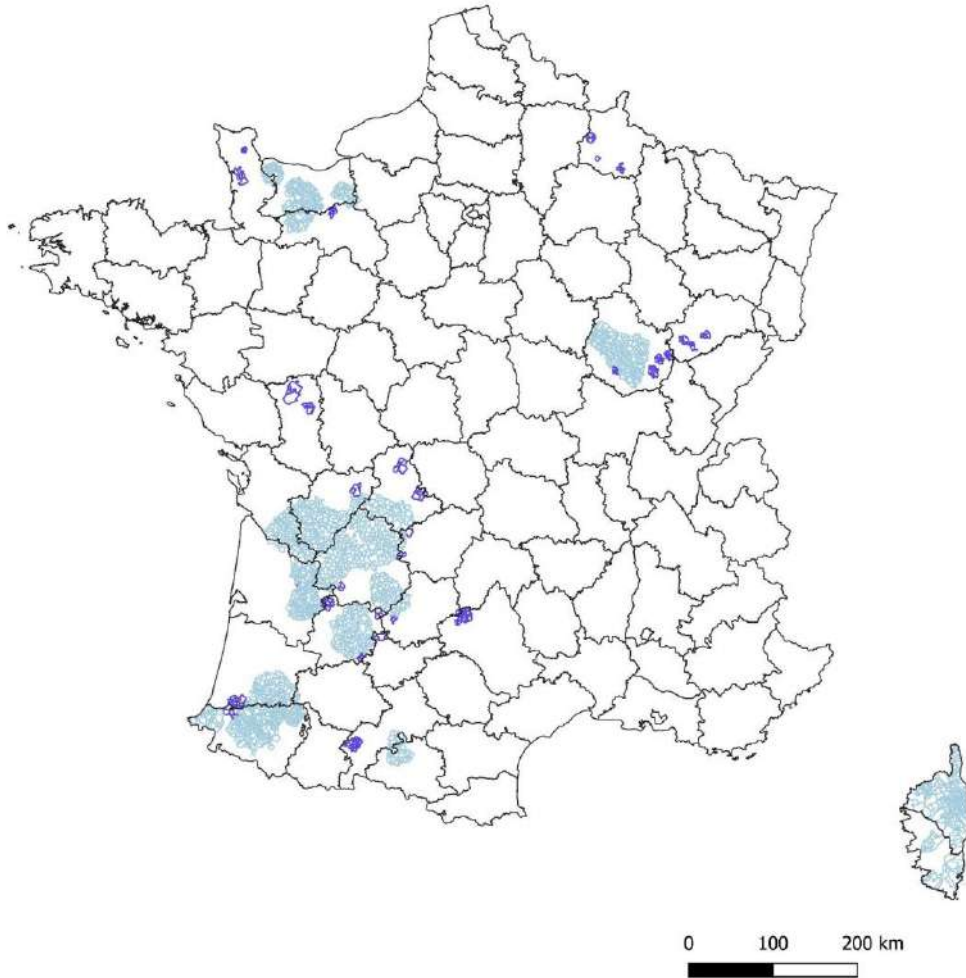


Actuellement

- Zonage autour cas BV & Blx des 5 dernières années
- ➔ ZPR = ZR : 10 km
- ➔ ZI : 2 km
- ➔ ZP : 2 km foyer BV
- ➔ Agrandissement ZPR, mais secteurs avec peu d'élevages

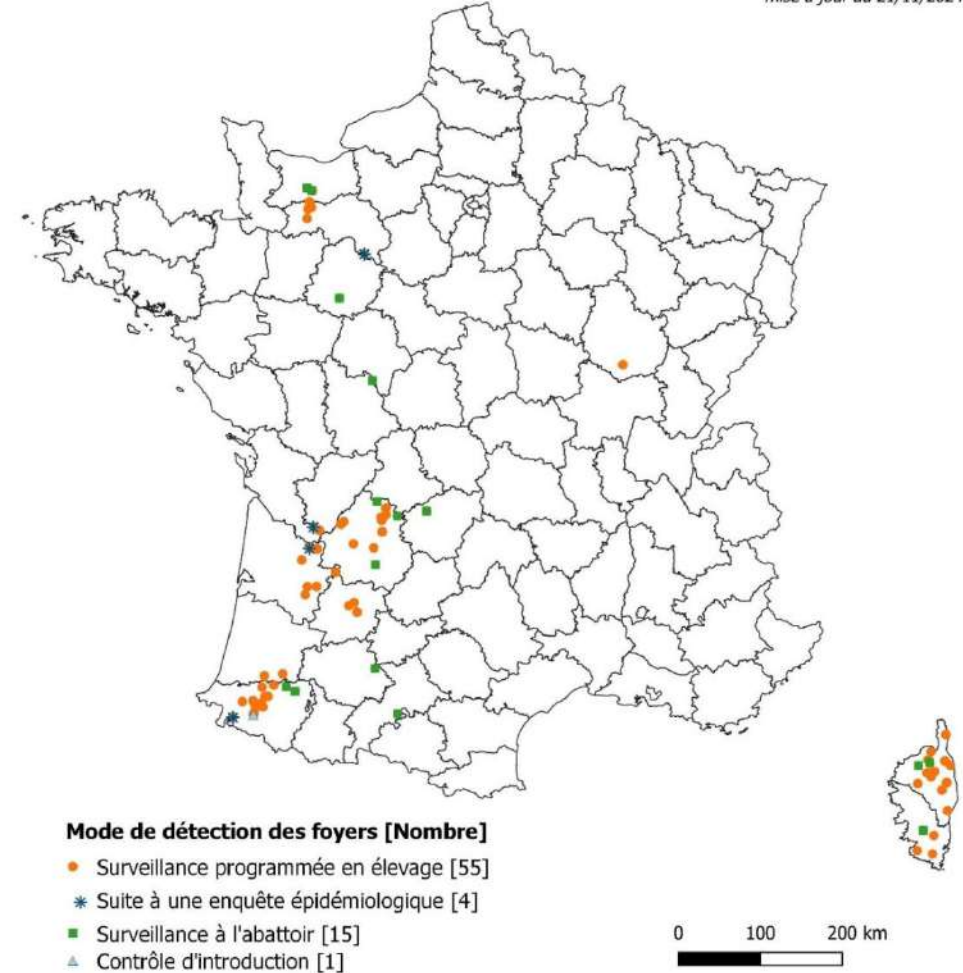


**Tuberculose bovine :
ZPR pour la campagne de prophylaxie 2023-2024**



**Tuberculose bovine :
Répartition des 75 foyers déclarés en 2024**

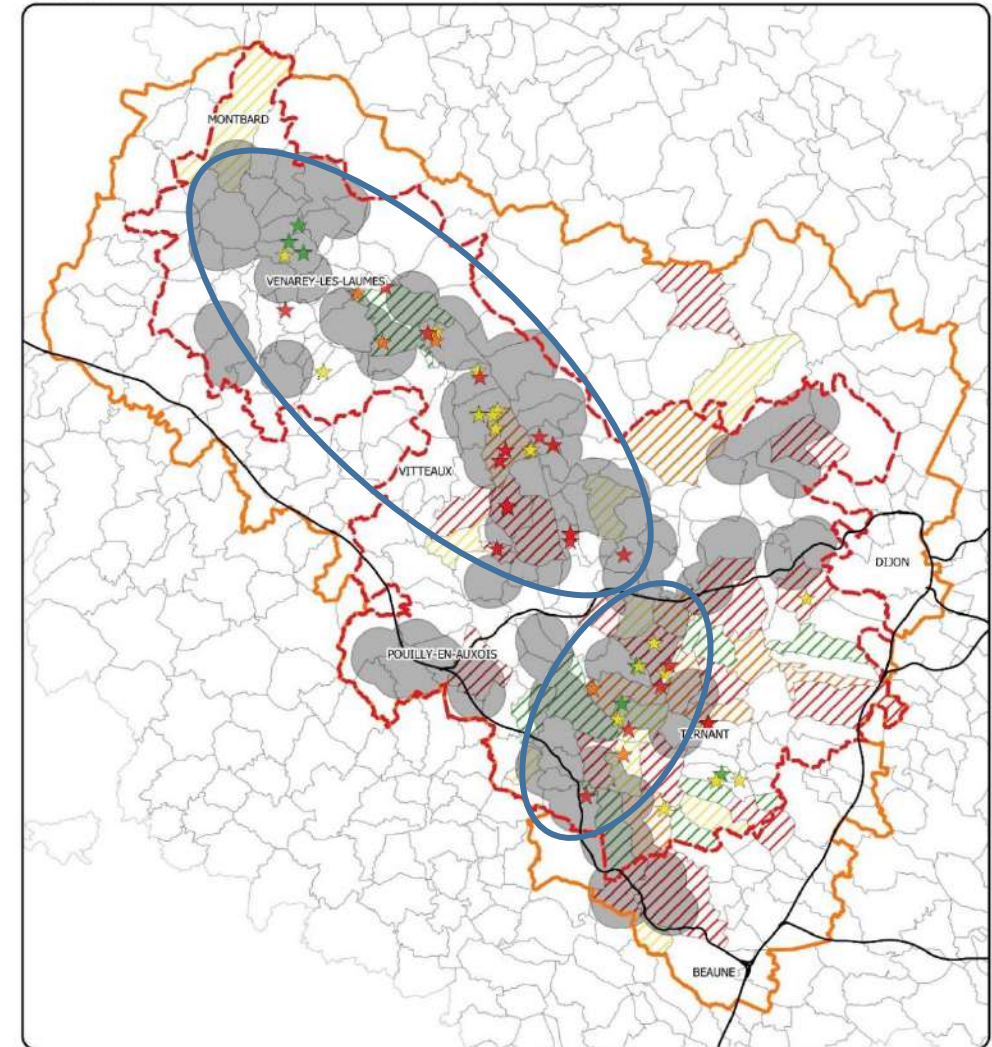
mise à jour au 21/11/2024



➔ **Situation favorable** comparativement aux autres zones enzootiques

Situation sur les 5 dernières années (hors ZP)

- ➔ Concordance foyers bovins – blaireaux infectés +/- sangliers séropositifs
- ➔ Concentration des cas dans 2 vallées
- ➔ Différences zones Nord / Sud

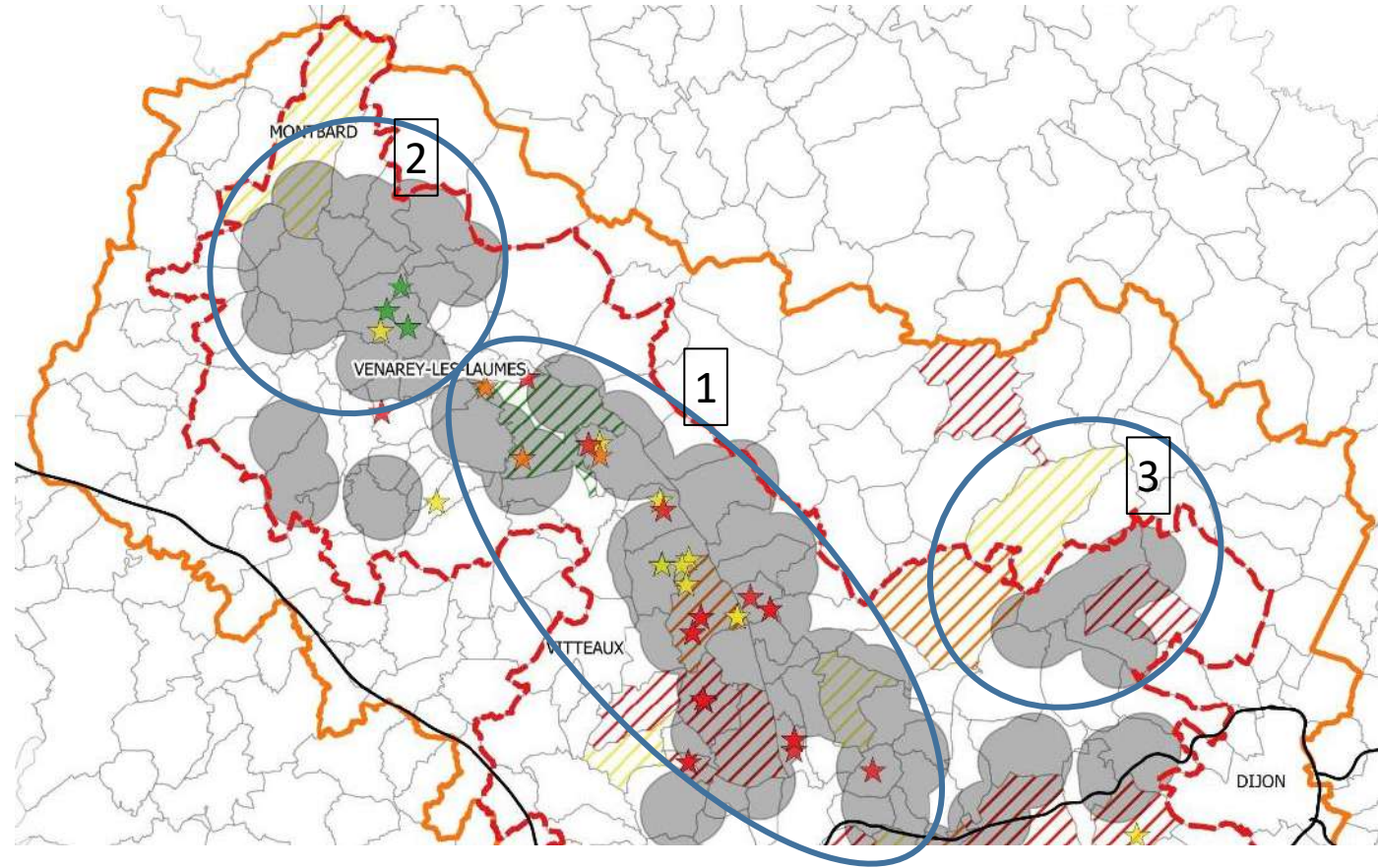


Dans la zone nord

- Souche principale = BCG (SB0120)

- 1) Majorité des cas et les plus récents : vallée de l'Ozerain
- 2) Cas 2019 à 2021, mais attention surveillance blaireaux
- 3) Pâtures de foyers bovins + sangliers séropositifs
➔ quid des blaireaux ?

Résultats surveillance sérologique /
sangliers : séroprévalence entre 2 et 4%
➔ Environnement semble peu
contaminé, en lien avec foyers bovins

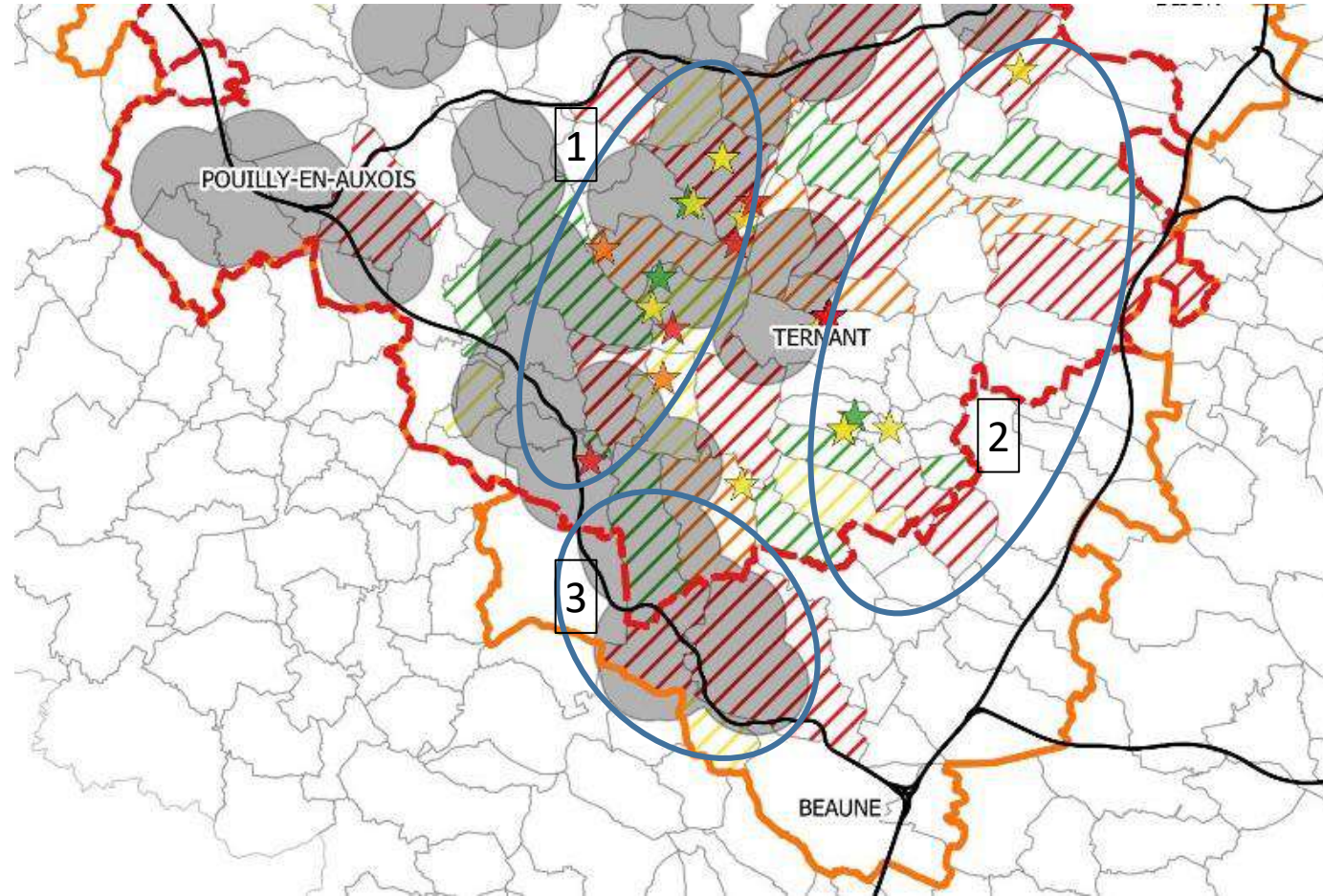


	2020-21	2021-22	2022-23	2023-24
Analysés	187	164	205	148
Séropositifs	2	6	2	6

Dans la zone sud

- Souche principale = GB35 (SB0134)

- 1) Bovins et blaireaux infectés principalement en vallée de l'Ouche
- 2) Massif forestier, très peu de pâtures : problématique faune sauvage
- 3) Foyer 2024 ➔ impact sur le zonage

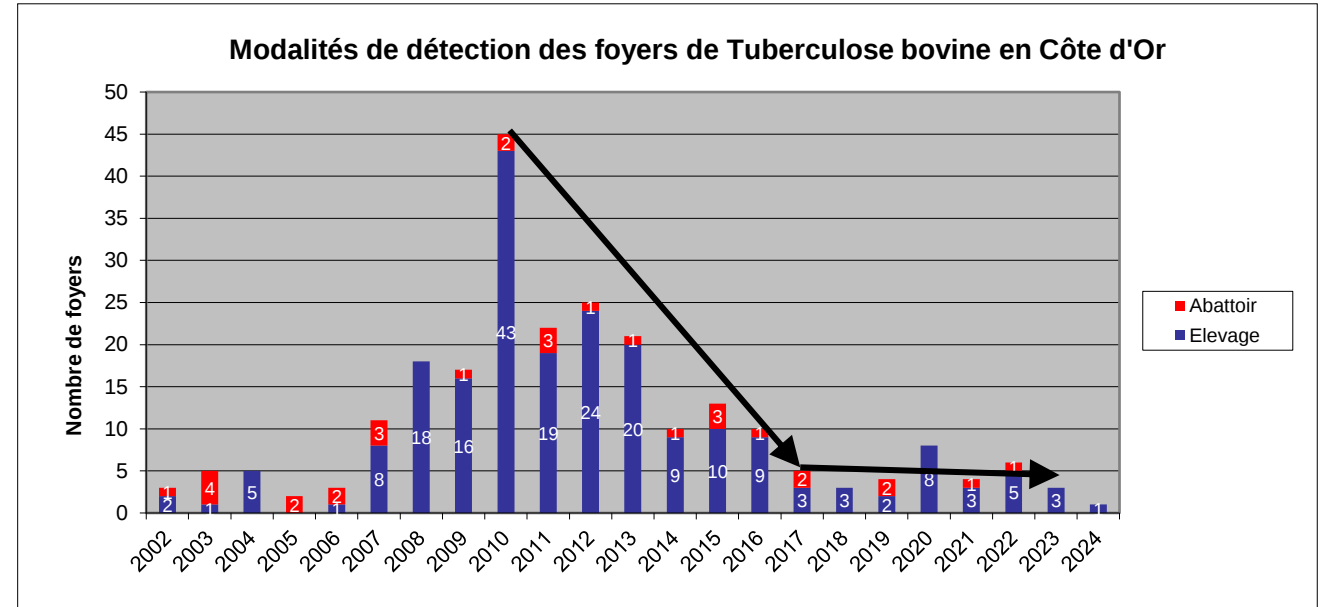


Résultats surveillance sérologique /
sangliers : séroprévalence entre 10 et 20%
➔ Environnement semble plus
contaminé, même sans foyers bovins

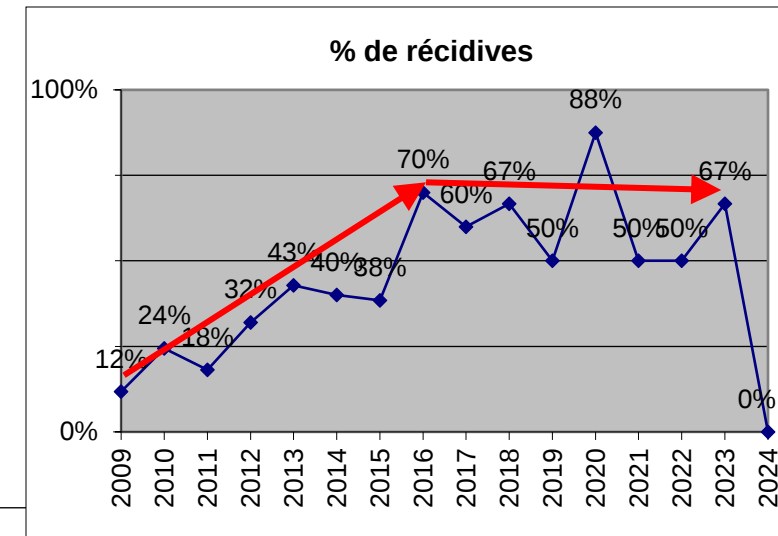
	2020-21	2021-22	2022-23	2023-24
Analysés	193	134	86	119
Séropositifs	24	13	17	16

Evolution en élevage

- Evolution globalement favorable depuis 2010
- Plus que quelques foyers



- Mais évolution concomitante du pourcentage de récurrences (recontaminations ou résurgences ?)



Conclusion

- Situation en nette amélioration : travail collectif payant, à poursuivre
 - Peu de foyers bovins récemment, mais nombreuses récurrences
 - ➔ Difficulté d'éradication de la maladie : besoin de tous les acteurs et d'une lutte la plus adaptée possible
 - 2 situations distinctes dans le département ➔ Rôle épidémiologique de la faune sauvage dans le système multi-hôtes ?
- ➔ Nécessité d'une connaissance plus précise de la situation épidémiologique
Grâce aux nouveaux outils d'analyse, dont le séquençage génomique ?

Merci pour votre attention

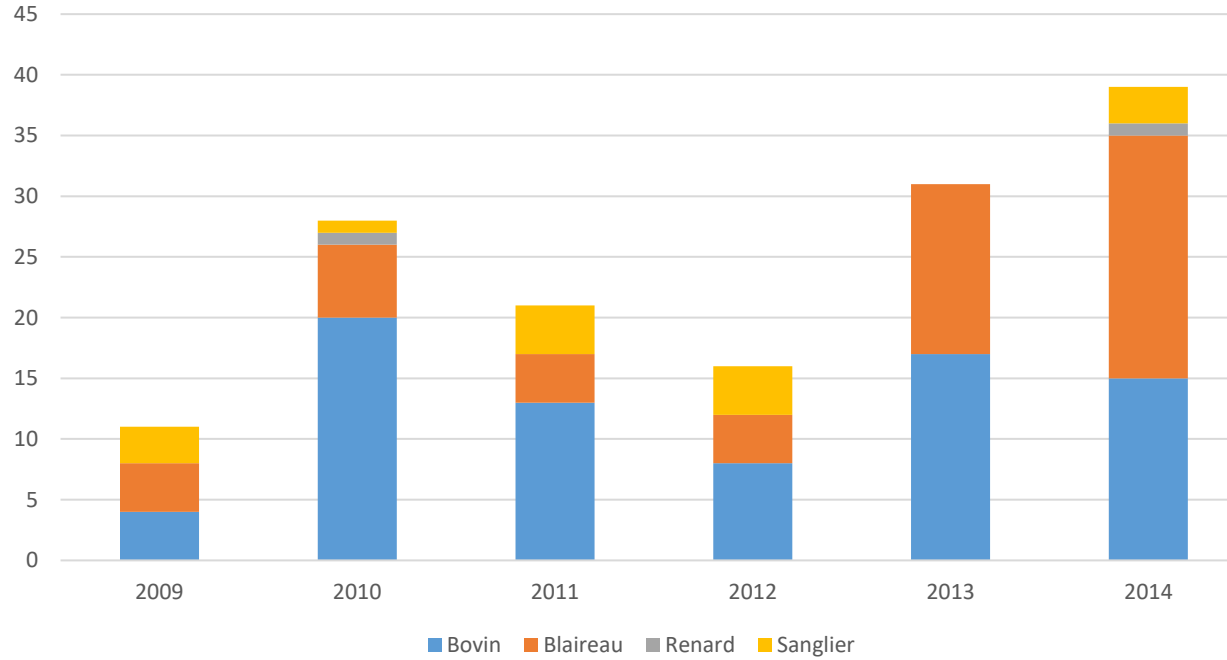


anses

- **INTÉRÊT DE LA GÉNOMIQUE POUR LA GESTION DE LA TUBERCULOSE BOVINE**

1 — Souches BCG/SB0120 Côte d'or

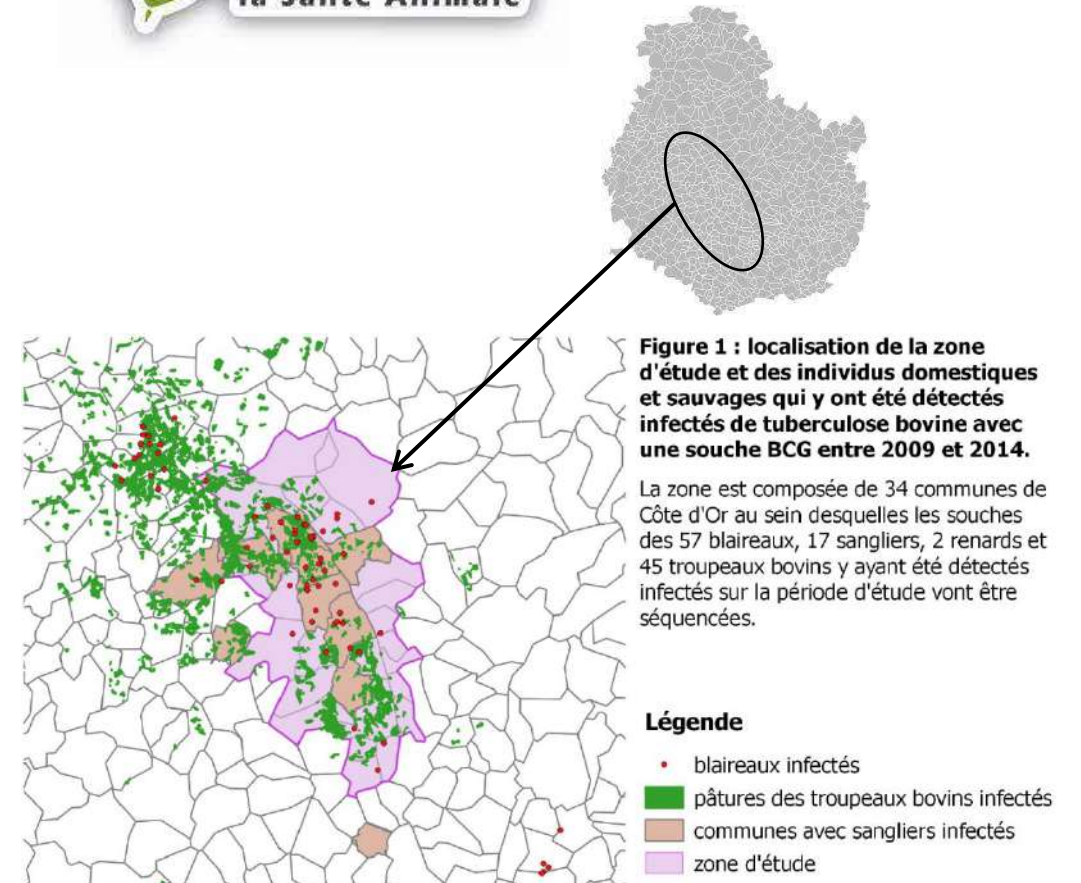
Souches BCG-CdO



158 souches sélectionnées:

profil BCG - 5 5 4 3 1 1 4 5 6

- 81 bovins: 3 souches/cheptel/an,
- 59 blaireaux
- 16 sangliers
- 2 renards



Post-WGS

146 souches analysables → 112 SNPs

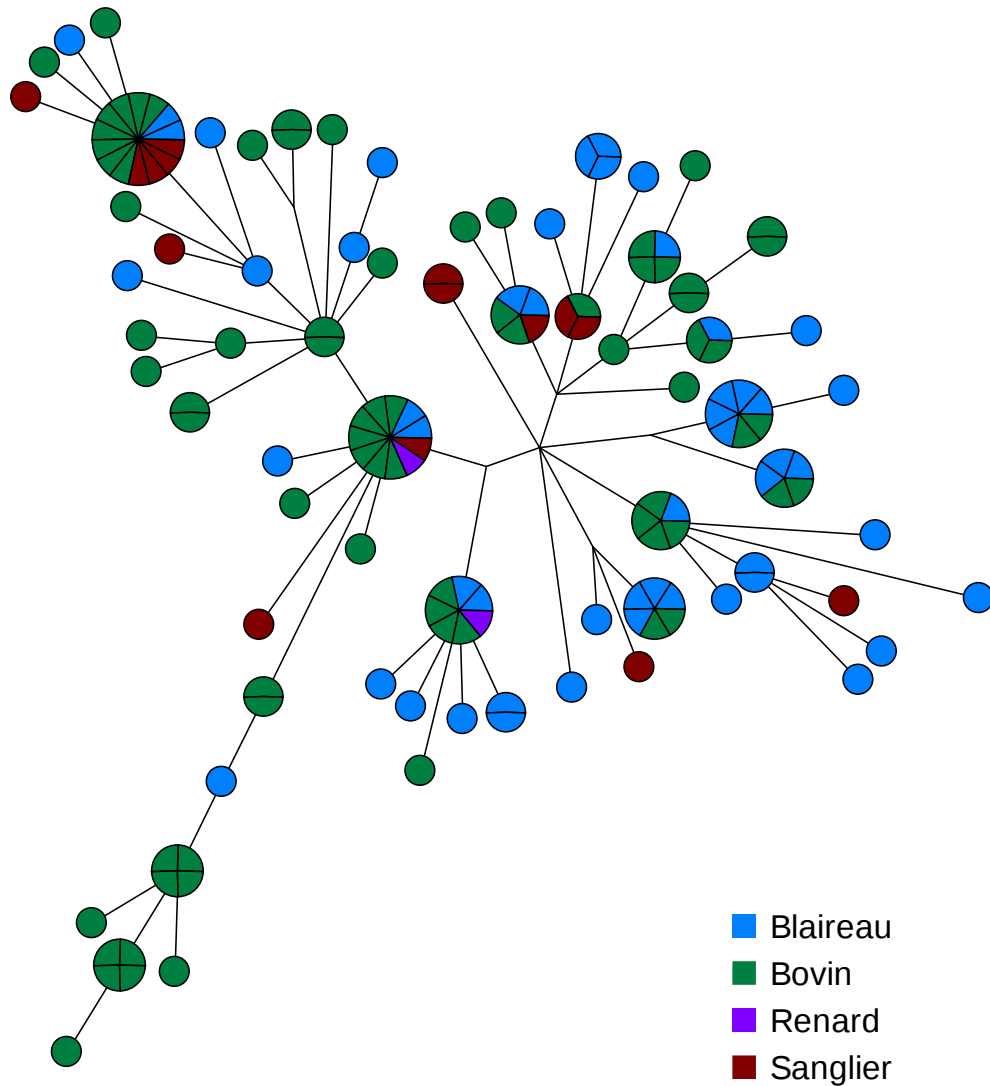


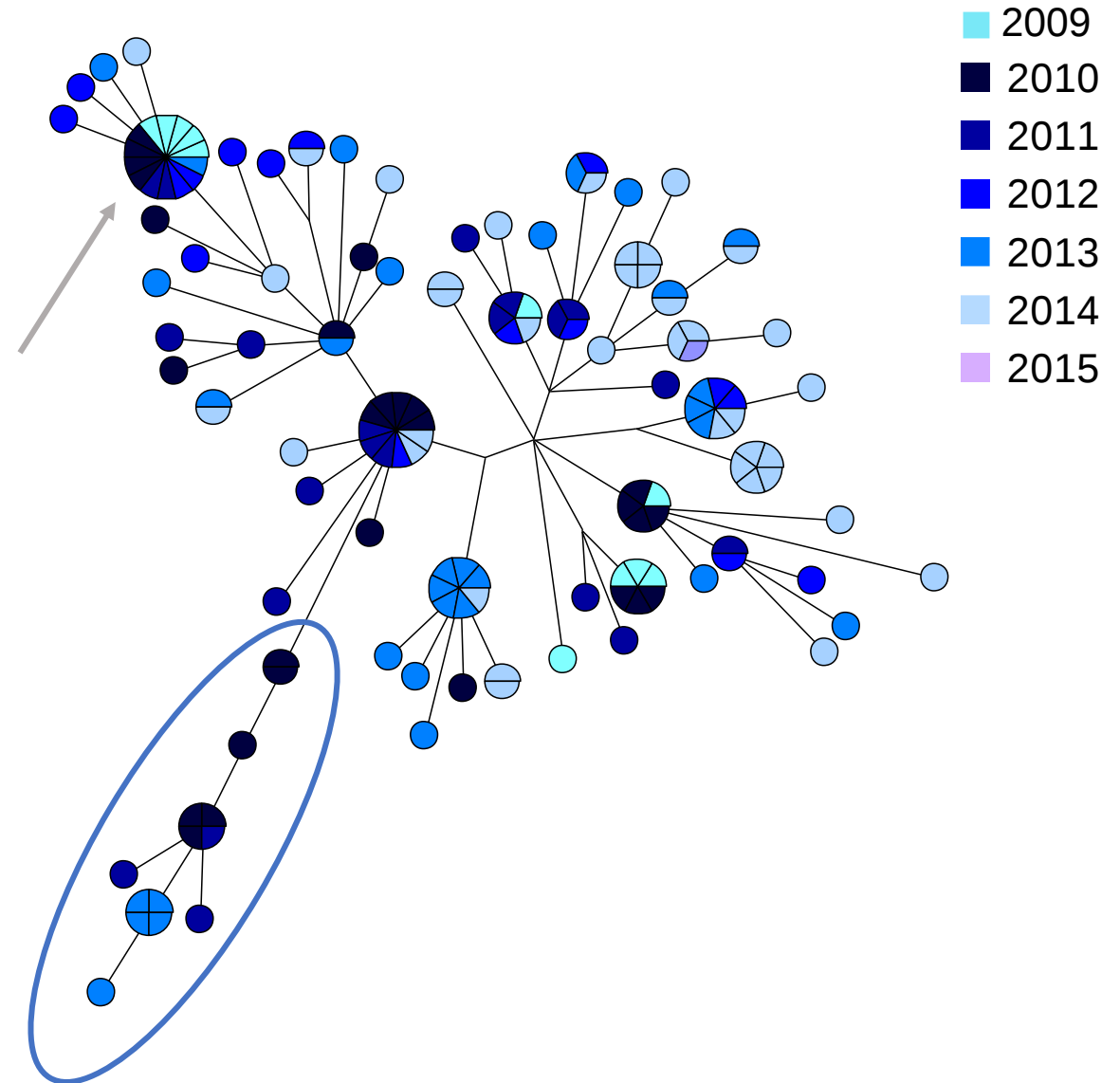
Illustration en fonction des espèces

- Un camembert = souches identiques
- Branche proportionnelle au nombre de mutation
- Différentes espèces réparties sur toutes les branches
- Souches identiques entre bovins et FS

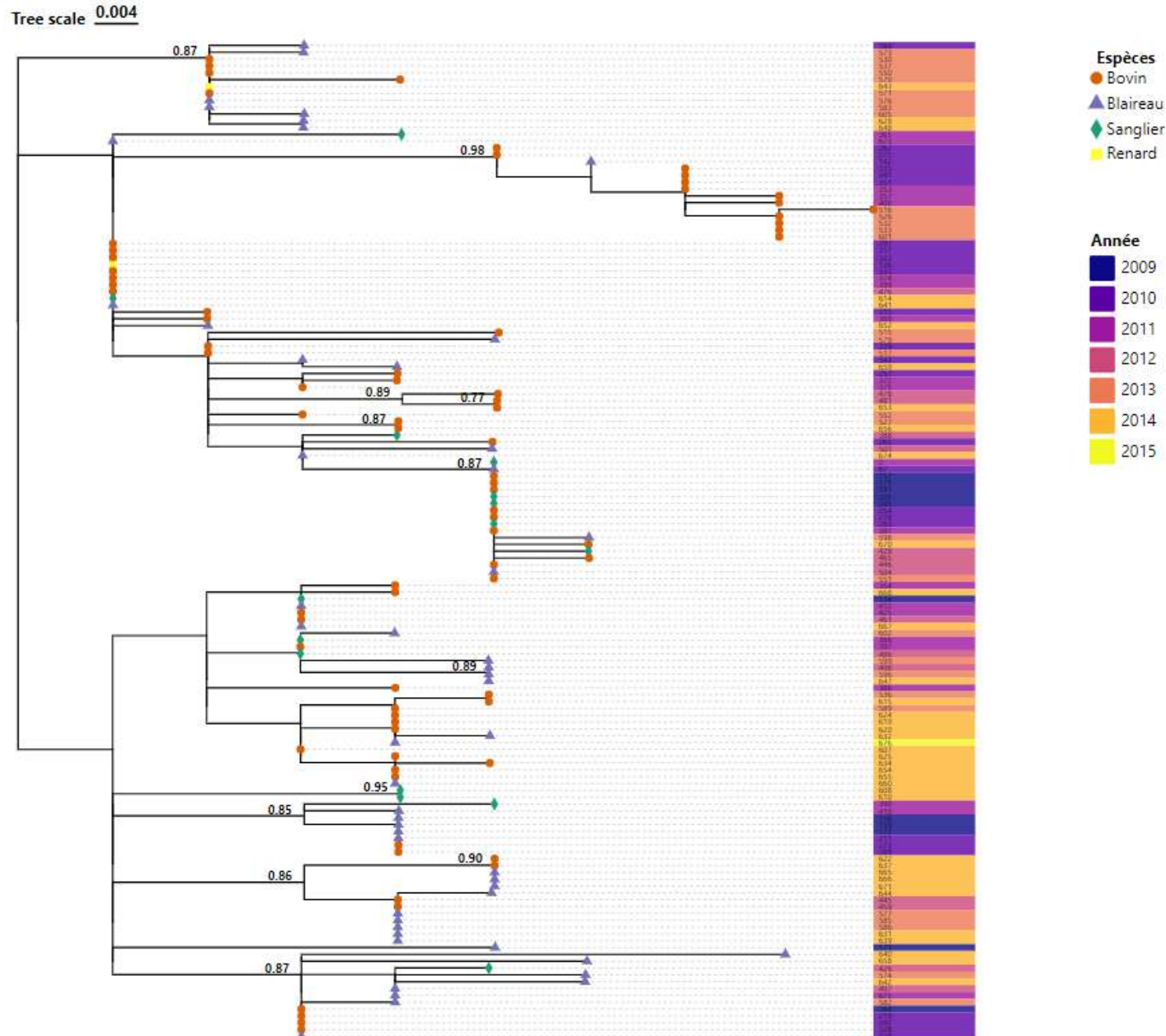
Représentation graphique = Maximum de parcimonie

Illustration en fonction des années

- Souches qui perdurent dans le temps, identiques plusieurs années
- Branche avec des évolutions dans le temps



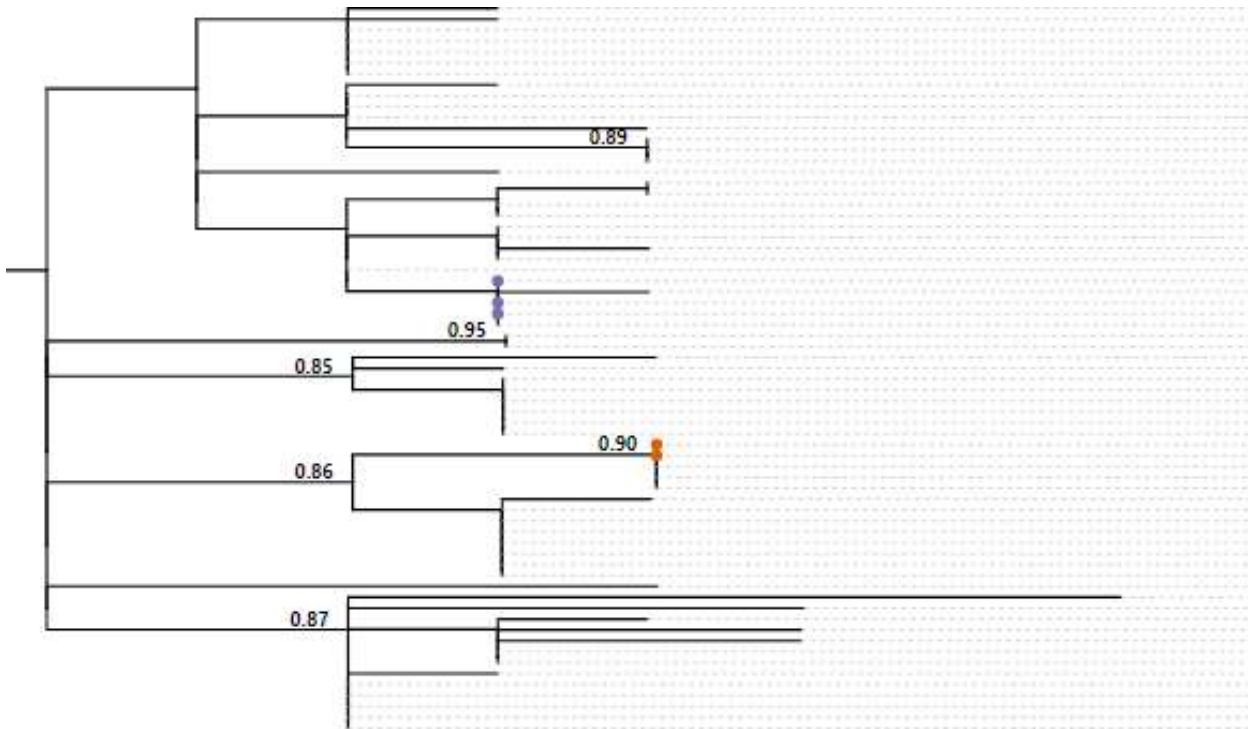
Représentation graphique = Maximum de vraisemblance



- Espèces identifiées au bout des branches
- Branche de l'arbre qui regroupe plusieurs souches = cluster
- Cluster très robuste = fort % bootstrap = lien génétique fort entre les souches du cluster

Ce que l'on peut observer grâce aux données génomiques

1. Plusieurs souches du même cheptel, même APDI



Cheptel A (2 souches)

Cheptel B (3 souches)

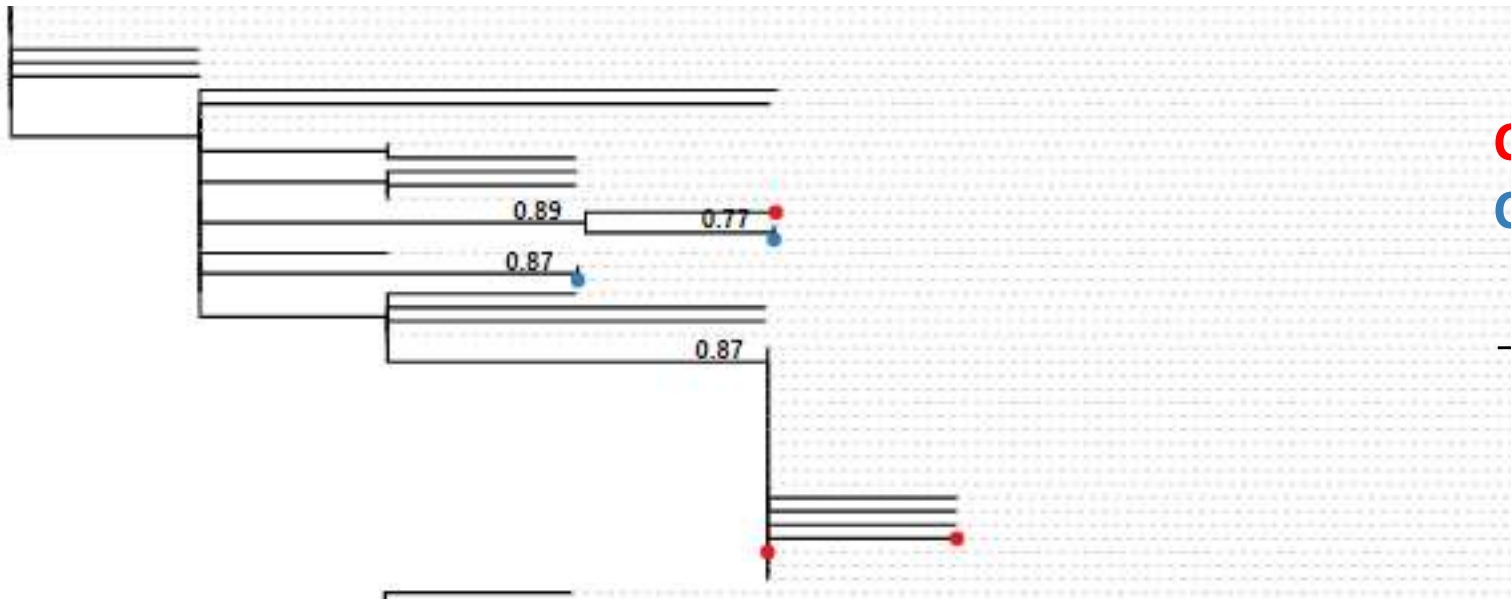
Cheptel C (2 souches)

→ Les souches sont identiques



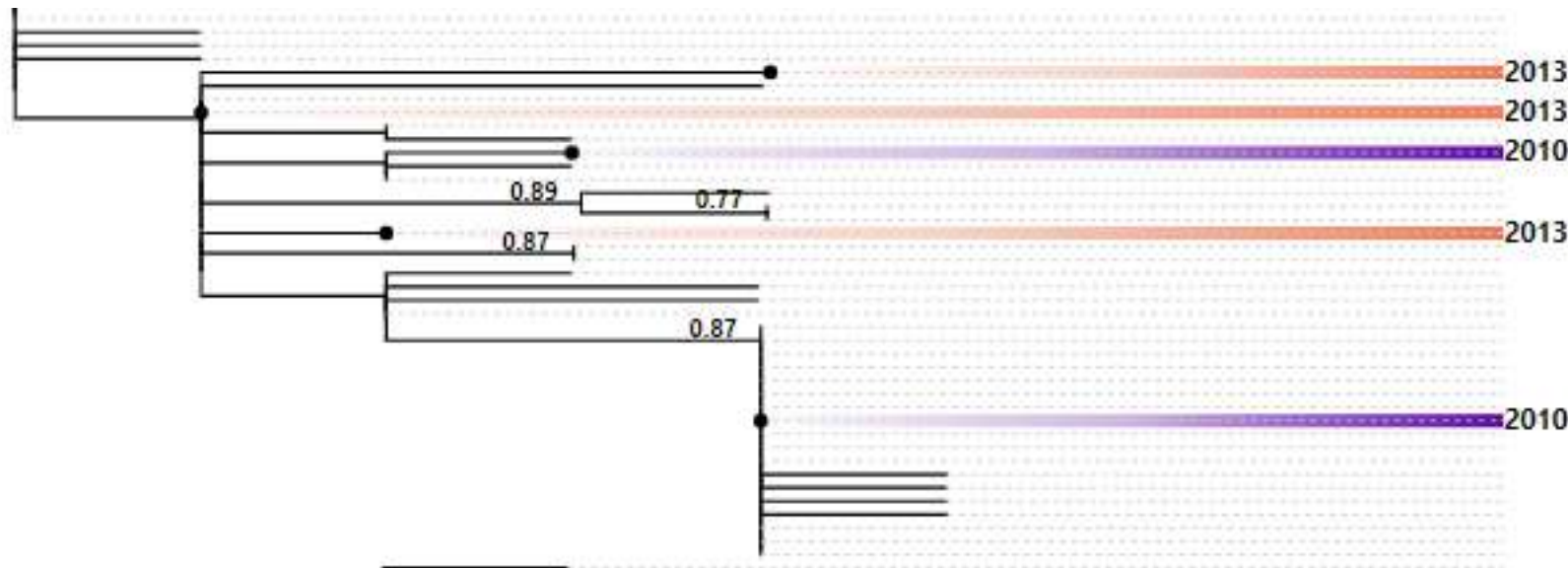
Ce que l'on peut observer grâce aux données génomiques

1. Plusieurs souches du même cheptel, même APDI



Plusieurs souches circulent au sein d'un même cheptel

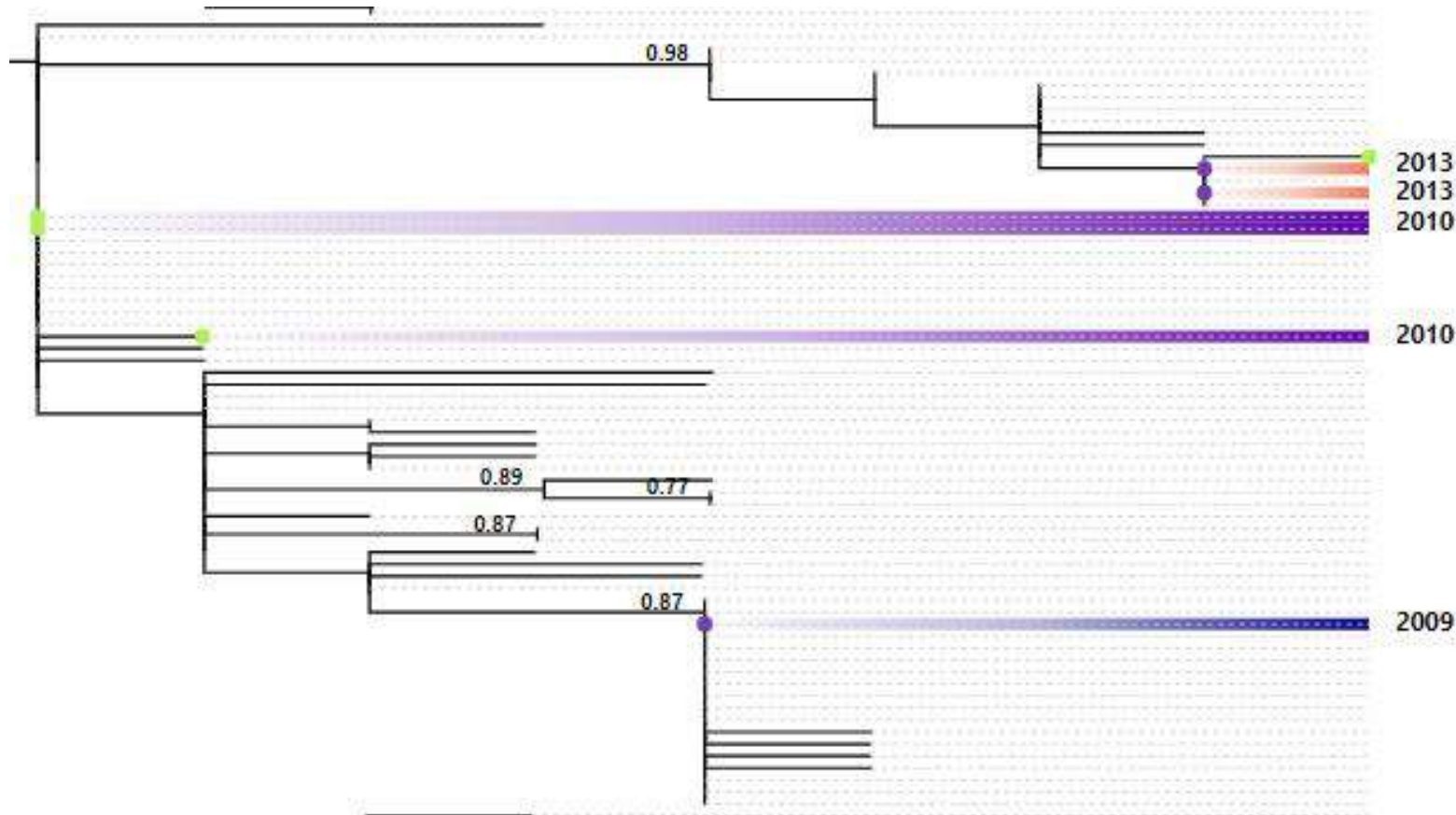
2. Récidive : Un cheptel, plusieurs ADPI



Cheptel F = possible résurgence, souches assez proches

En 2010, deux souches avec 5 SNPs de différence

2. Récidive : Un cheptel, plusieurs ADPI



Cheptel G (4 souches) 8-9 SNPs

Cheptel H (3 souches) 11 SNPs

Souches très différentes

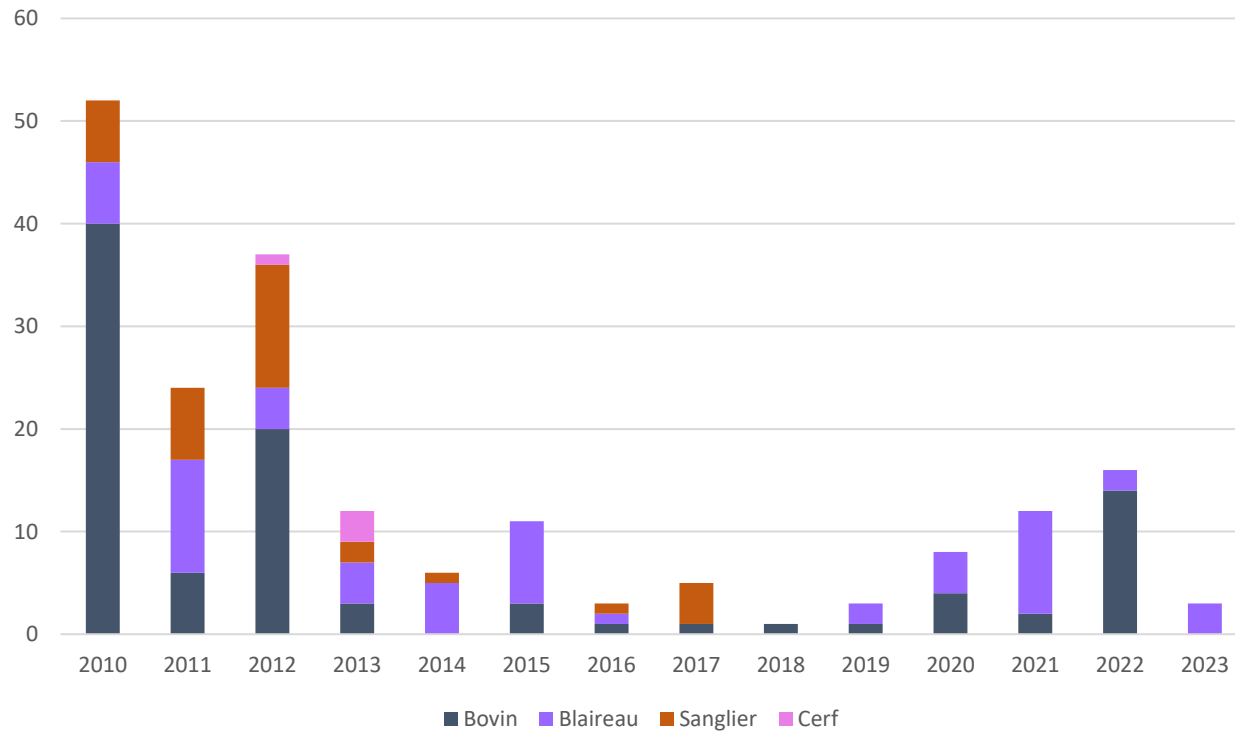
→ introduction d'une nouvelle souche de *M. bovis* suite à l'assainissement

2 — Souches GB35 Côte d'Or



Souches GB35 Côte d'Or

193 souches séquencées de 2010 à 2023



- 96 souches de bovins (3 souches/cheptel/APDI)
- 33 souches de sangliers
- 60 souches de blaireaux
- 4 souches de cerfs

Post-WGS

187 souches analysables

-> 136 SNPs

Représentation graphique = Maximum de parcimonie

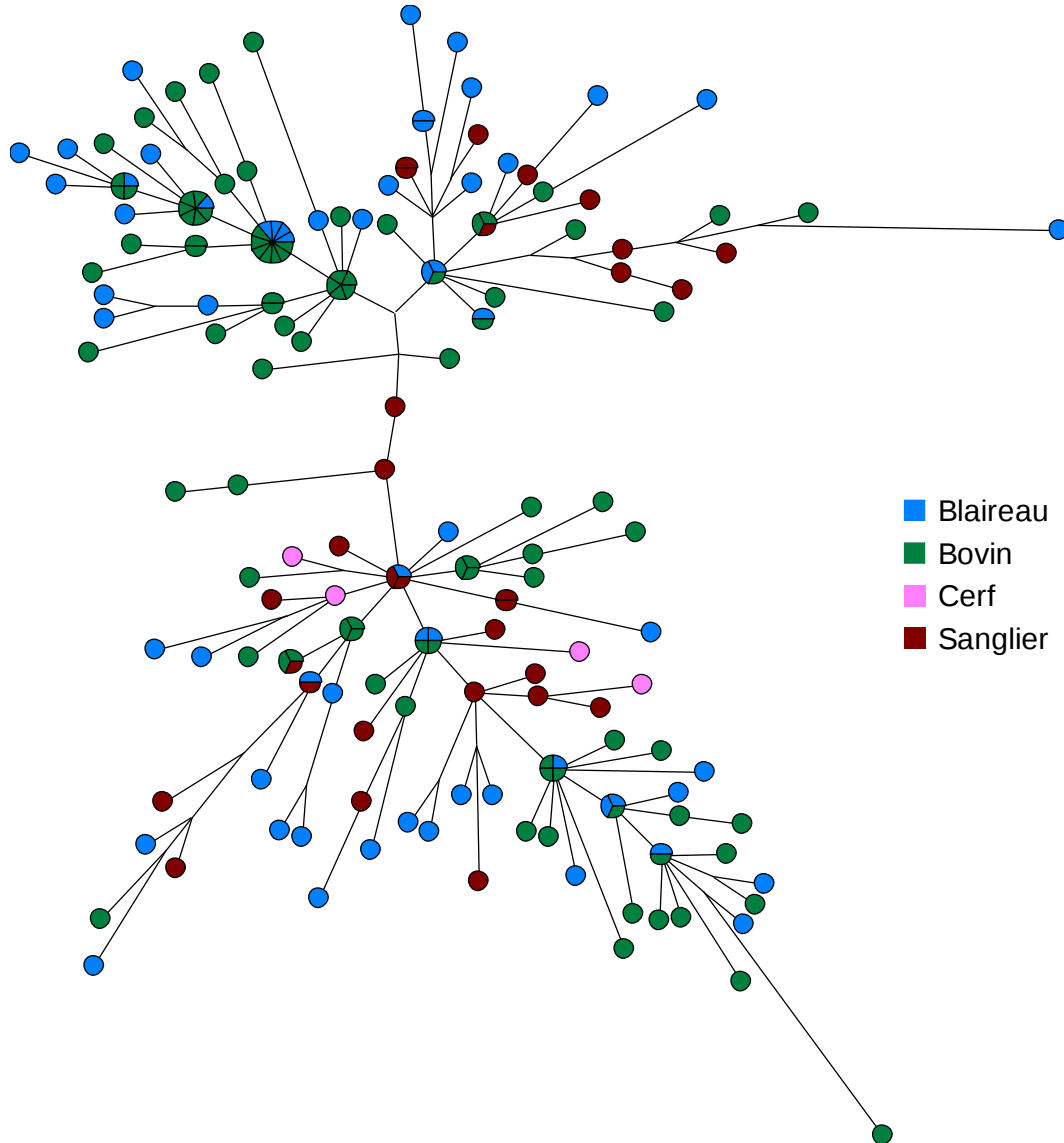
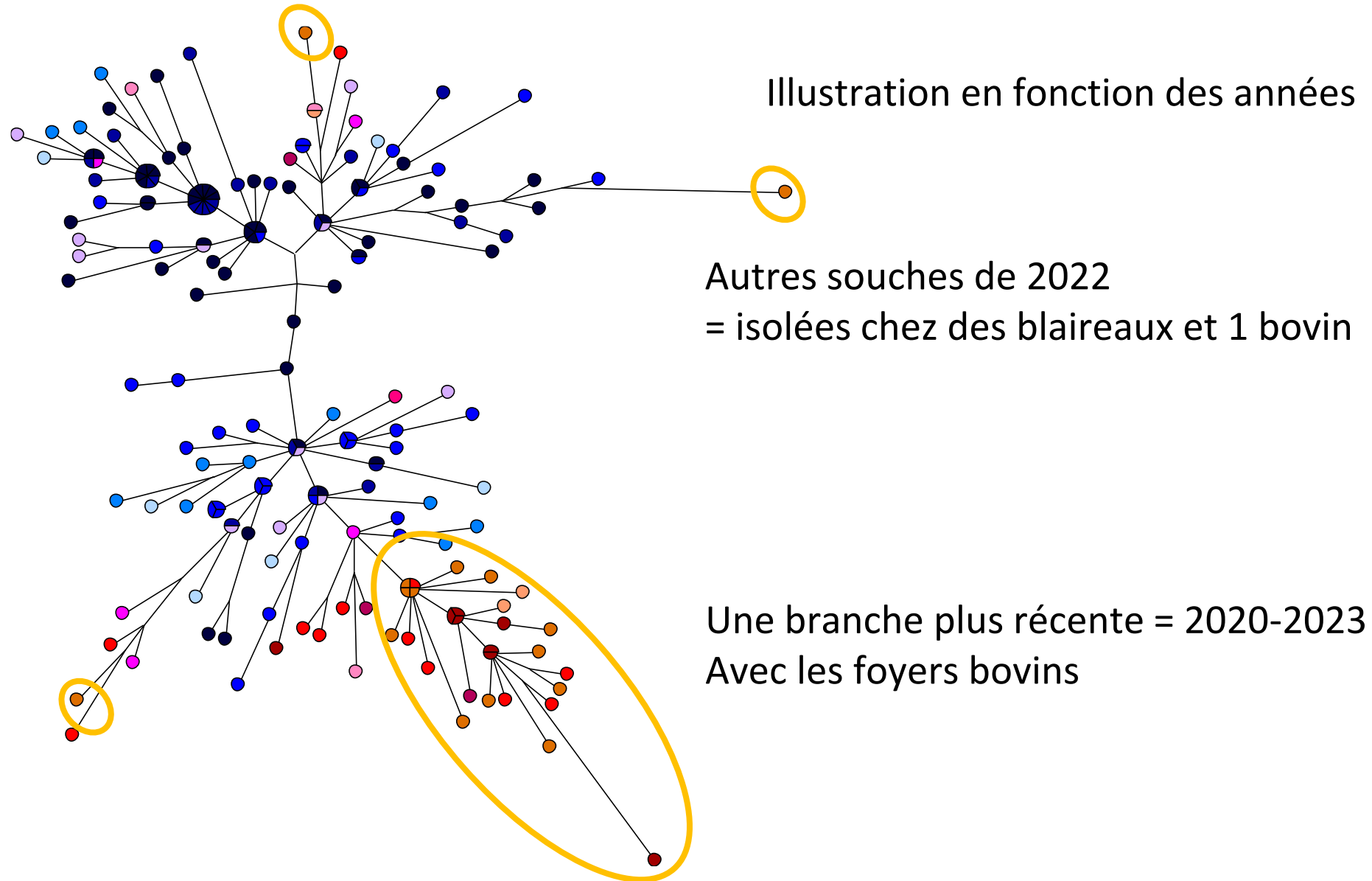
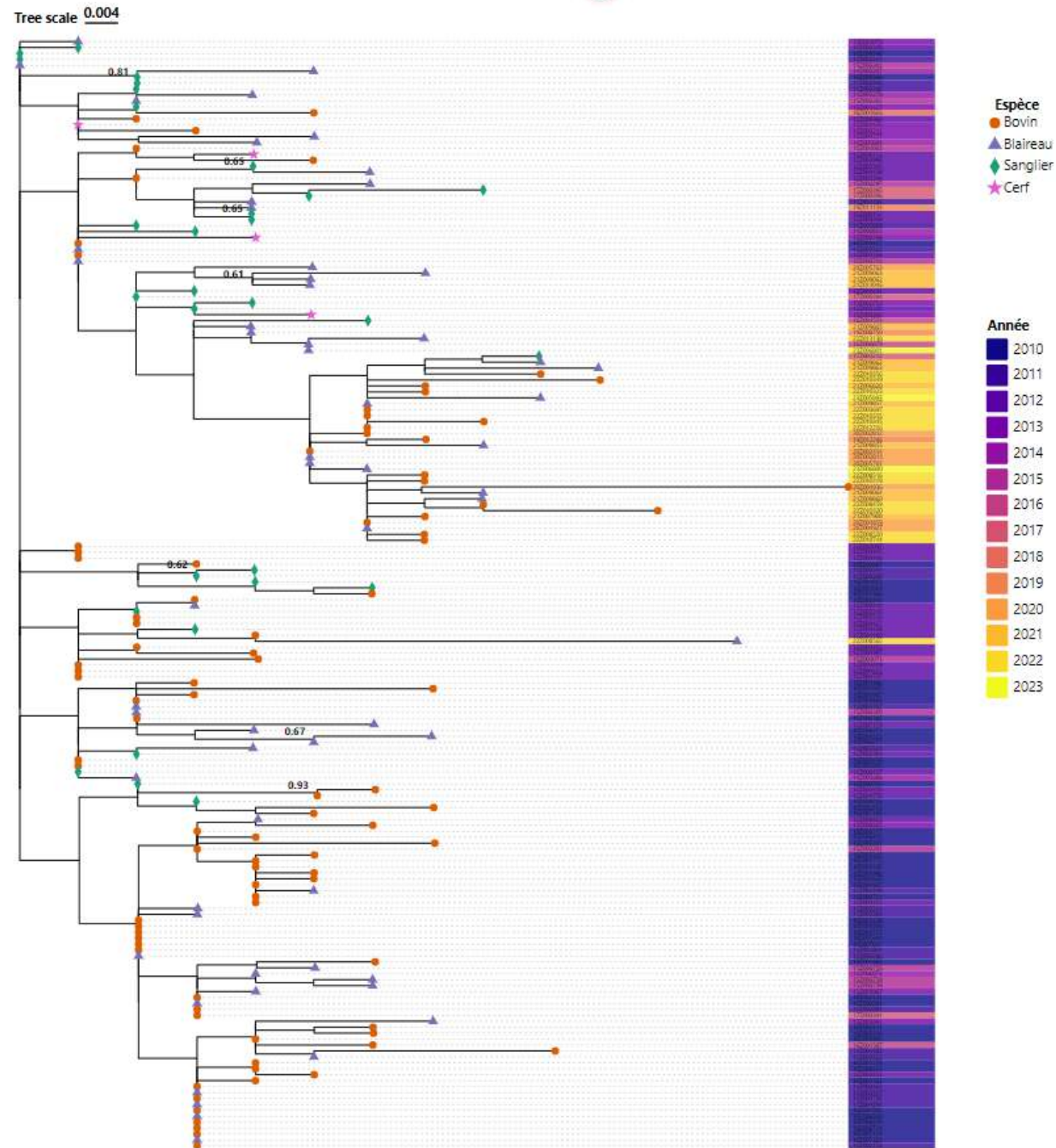


Illustration en fonction des espèces

- Un camembert = souches identiques
- Branche proportionnelle au nombre de mutation
- Différentes espèces réparties sur toutes les branches
- Souches identiques entre bovins et FS

Représentation graphique = Maximum de parcimonie



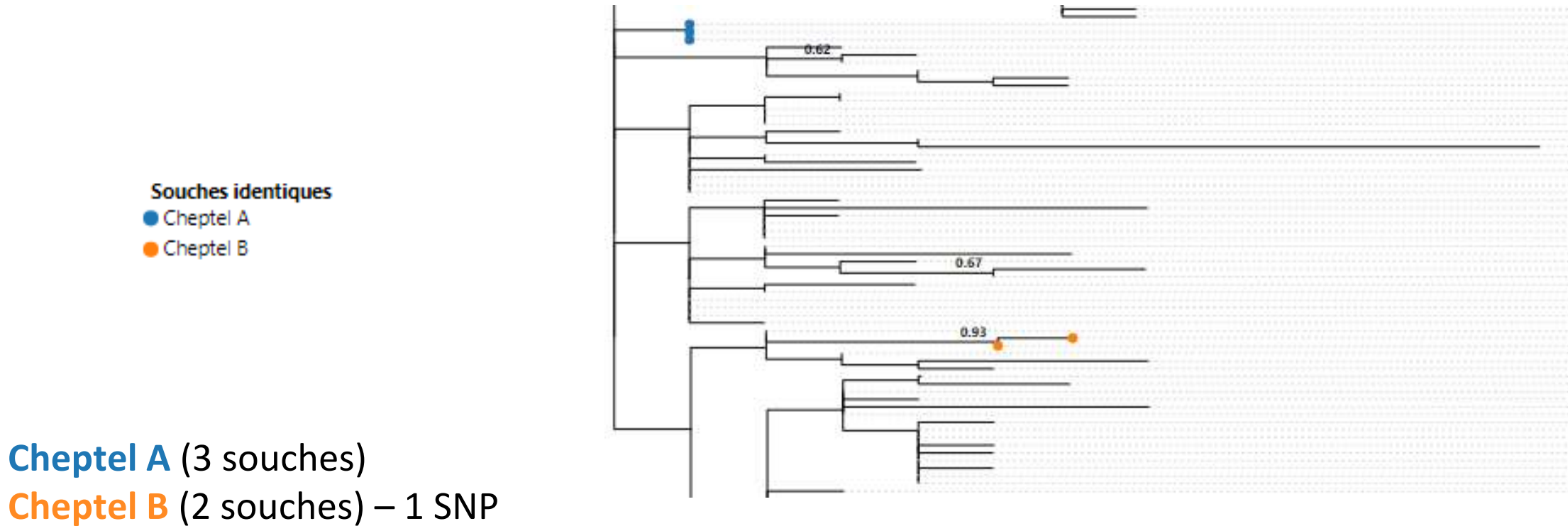


Représentation graphique = Maximum de vraisemblance

- Espèces identifiées au bout des branches
- Visualisation de clusters (notion de robustesse avec le bootstrap)

Ce que l'on peut observer grâce aux données génomiques

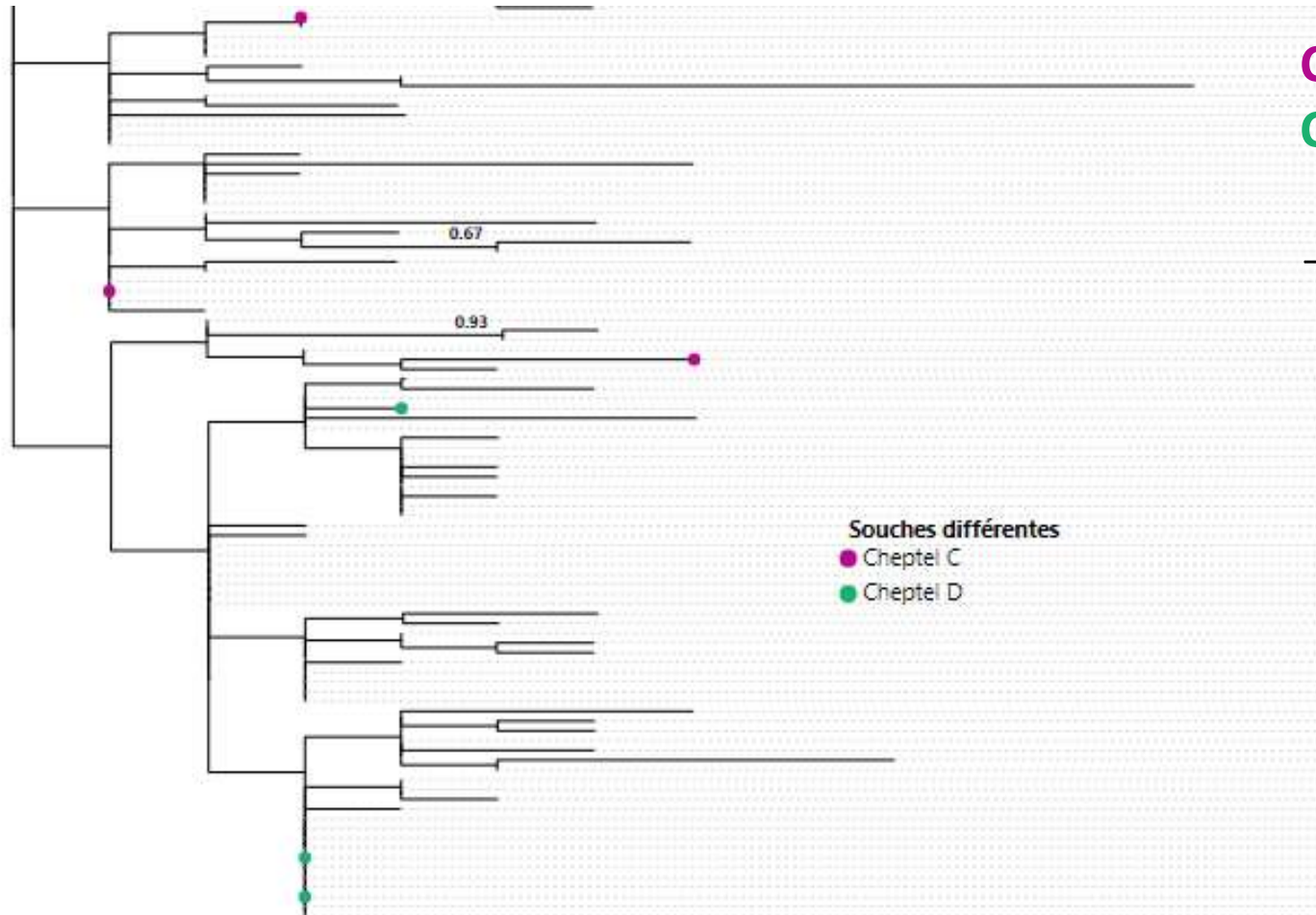
1. Plusieurs souches du même cheptel, même APDI .



→ Les souches sont identiques ou presque (< 2 SNPs)

Ce que l'on peut observer grâce aux données génomiques

1. Plusieurs souches du même cheptel, même APDI



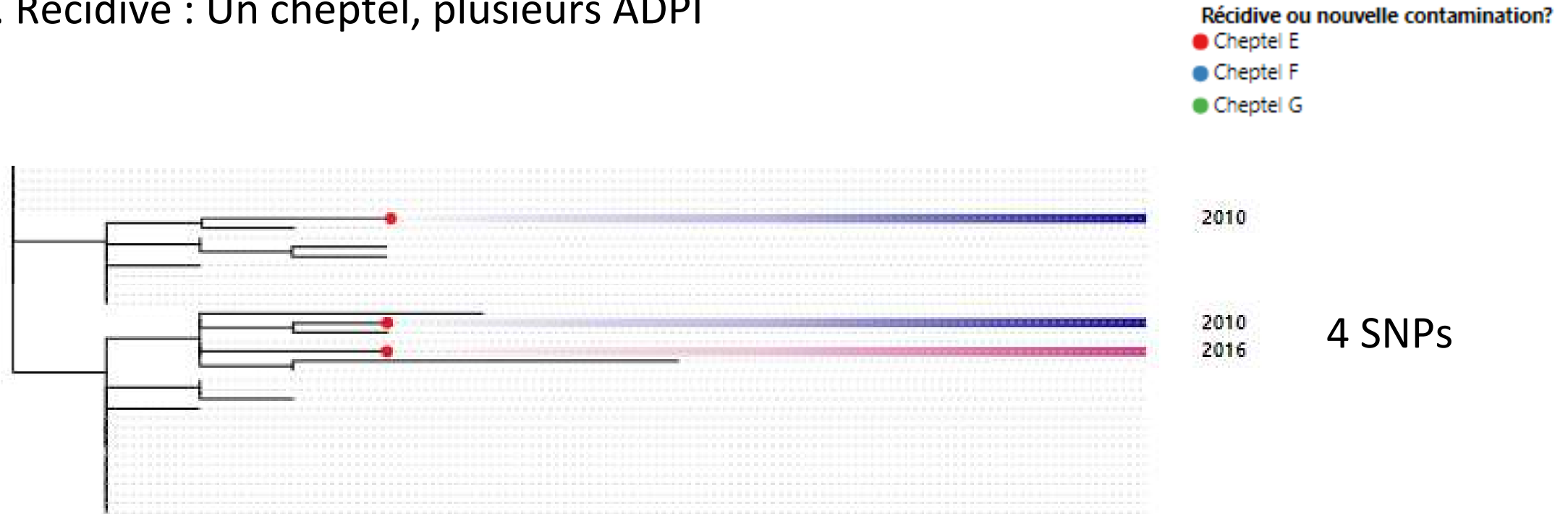
Cheptel C (3 souches) – 6 SNPs

Cheptel D (3 souches) – 3 SNPs

→ Les souches sont différentes

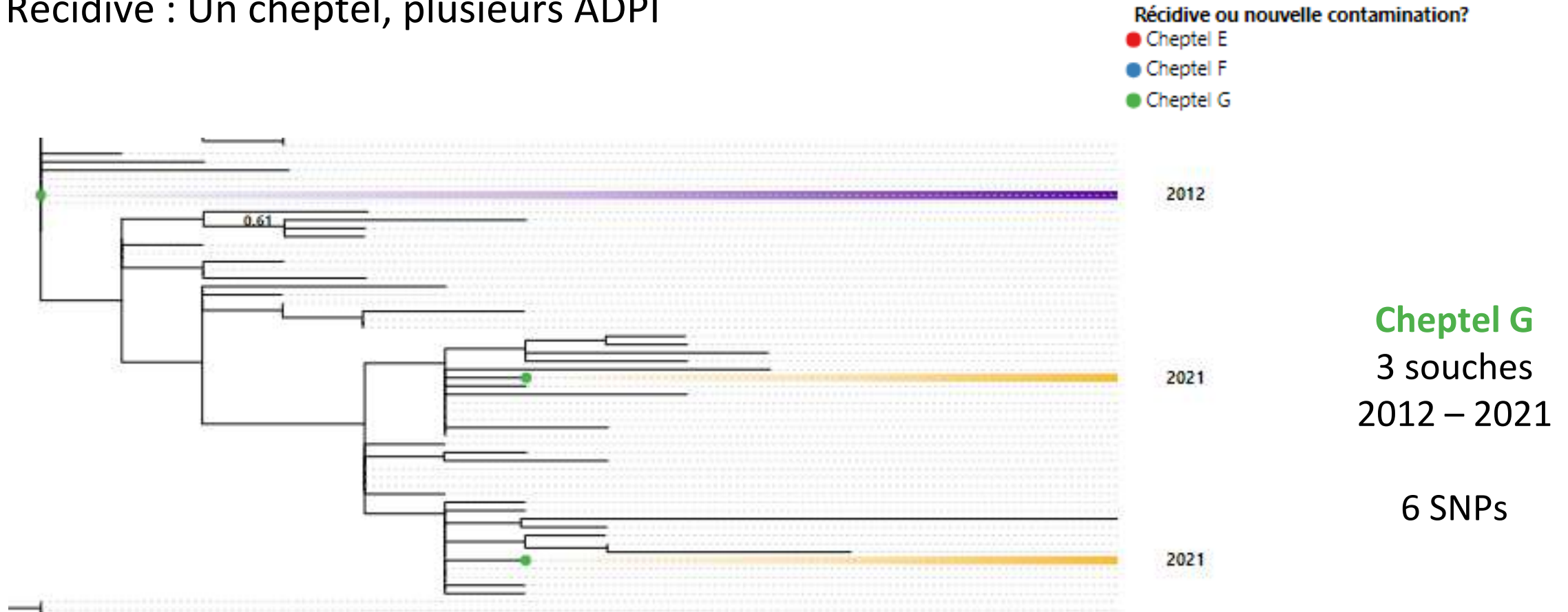
Plusieurs souches circulent au sein d'un même cheptel

2. Récidive : Un cheptel, plusieurs ADPI



Cheptel E : Résurgence avec la même souche de *M. bovis*

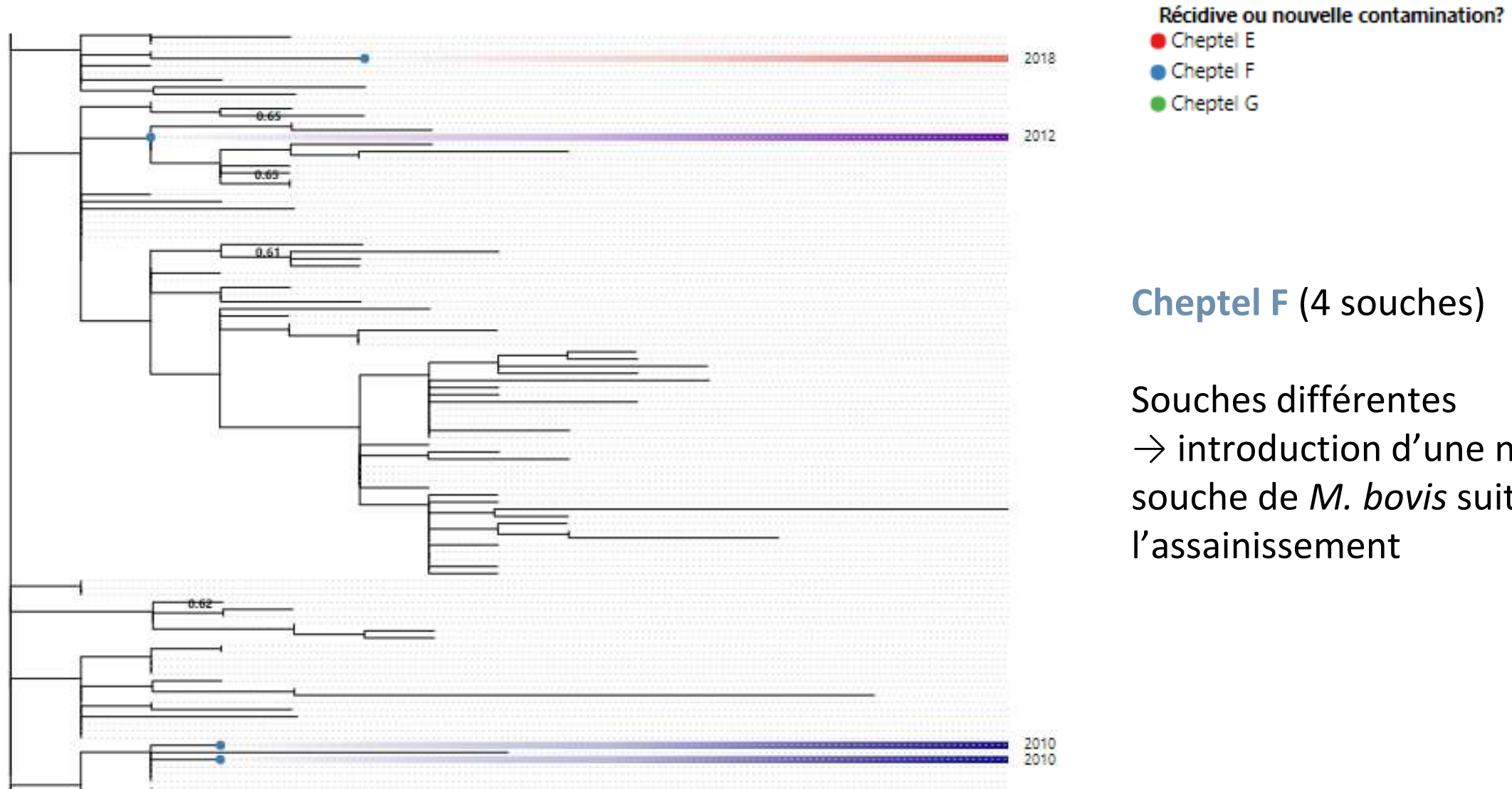
2. Récidive : Un cheptel, plusieurs ADPI



Résurgence avec la même souche de *M. bovis* qui aurait évolué avec le temps?

Ce que l'on peut observer grâce aux données génomiques

2. Récidive : Un cheptel, plusieurs ADPI



3. Conclusions



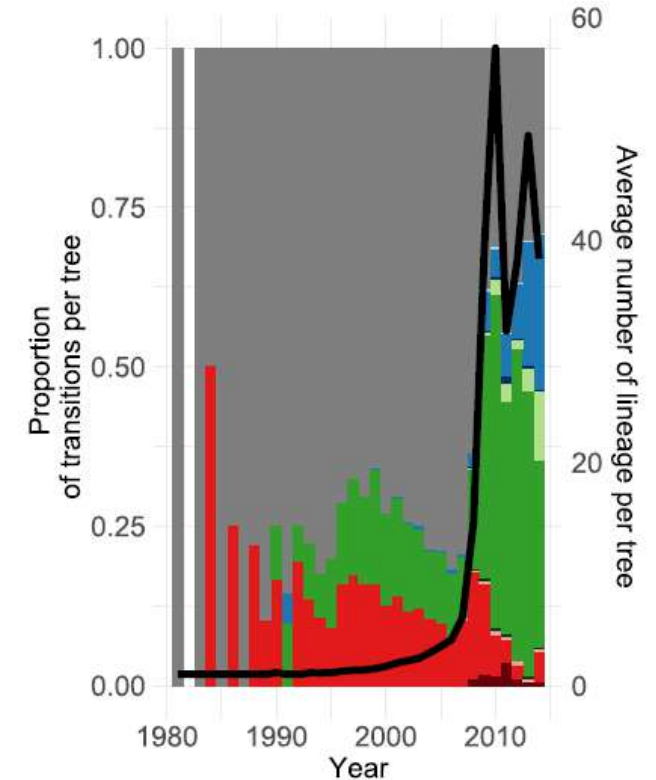
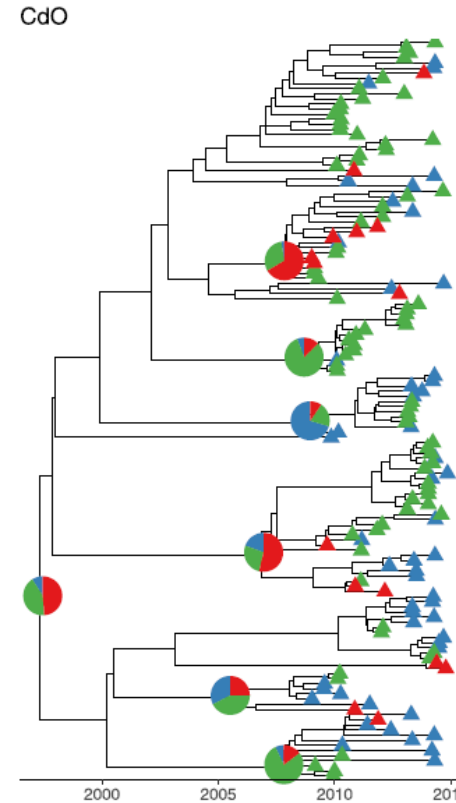
Les apports de la génomique

- Établir un lien génétique entre les souches de *M. bovis*
 - Diversité au sein d'un même cheptel
 - Lien entre les souches isolées de différents cheptels
 - **Lien entre les souches bovines et les souches de la faune sauvage**
- Possibilité – mais pas toujours - de différencier une résurgence avec la même souche ou l'introduction d'une nouvelle souche
- Analyse des données génomiques en parallèle de l'enquête épidémiologique
 - Vérification des liens épidémiologiques (contact direct via pâtures ou échange de matériel)
 - Introductions
 - **Identification de clusters par zone géographique**

Perspectives pour la Côte d'Or

- Souches BCG
Compléter le panel de souches depuis 2015 et élargir à tout le département
Modélisation avec le nouveau panel
- Souches GB35
Analyser les résultats avec la DRAAF et la DDPP
Modélisation de la transmission = stage de M2 de Valentin Diedler

Host species ▲ Badger ▲ Cattle ▲ Wild boar



Unknown Ba to Ca Ba persistence Ba to Wb Ca to Badger Ca persistence Ca to Wb Wb to Ba Wb persistence Wb to Ca

Merci pour votre attention





- Études sur la présence et la survie des mycobactéries dans l'environnement :
 - Résultats et recherches en cours

1. Présence et survie de *M. bovis* dans l'environnement

Survie de *M. bovis* BCG dans deux sols
et à 2 températures

Sol stérile et non stérile

Détection Culture et moléculaire (qPCR)

Impact of temperature and soil type on *Mycobacterium bovis* survival in the environment

Elodie Barbier, Murielle Rochelet, Laurent Gal, Maria Laura Boschioli, Alain Hartmann

Published: April 27, 2017 • <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176315>

Article	Authors	Metrics	Comments	Media Coverage
⌵				

Abstract

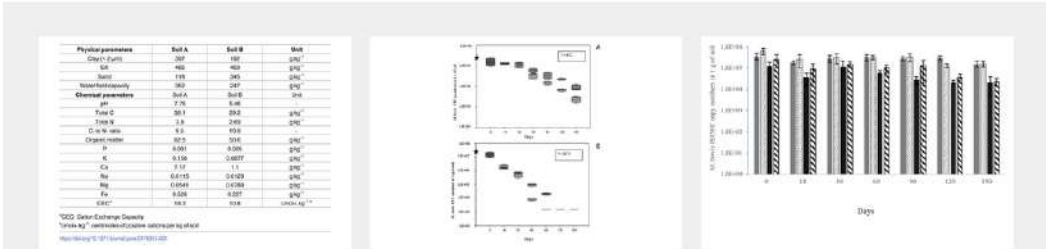
- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussion
- Supporting information
- Acknowledgments
- Author Contributions
- References

- Reader Comments
- Figures

Abstract

Mycobacterium bovis, the causative agent of the bovine tuberculosis (bTB), mainly affects cattle, its natural reservoir, but also a wide range of domestic and wild mammals. Besides direct transmission *via* contaminated aerosols, indirect transmission of the *M. bovis* between wildlife and livestock might occur by inhalation or ingestion of environmental substrates contaminated through infected animal shedding. We monitored the survival of *M. bovis* in two soil samples chosen for their contrasted physical and-chemical properties (i.e. pH, clay content). The population of *M. bovis* spiked in sterile soils was enumerated by a culture-based method after 14, 30, 60, 90, 120 and 150 days of incubation at 4°C and 22°C. A qPCR based assay targeting the IS1561[†] locus was also performed to monitor *M. bovis* in both sterile and biotic spiked soils. The analysis of survival profiles using culture-based method showed that *M. bovis* survived longer at lower temperature (4°C versus 22°C) whereas the impact of soil characteristics on *M. bovis* persistence was not obvious. Furthermore, qPCR-based assay detected *M. bovis* for a longer period of time than the culture based method with higher gene copy numbers observed in sterile soils than in biotic ones. Impact of soil type on *M. bovis* persistence need to be deepened in order to fill the gap of knowledge concerning indirect transmission of the disease.

Figures



Deux sols contrastés

Le premier argileux pH 7,75

Le deuxième sablo limoneux pH 5,46

Table 1

Physical and chemical parameters of soils A and B.

Physical parameters	Soil A	Soil B	Unit
Clay (< 2 μm)	397	192	g kg^{-1}
Silt	485	463	g kg^{-1}
Sand	118	345	g kg^{-1}
Water field capacity	352	247	g kg^{-1}
Chemical parameters	Soil A	Soil B	Unit
pH	7.75	5.46	-
Total C	36.1	29.2	g kg^{-1}
Total N	3.8	2.69	g kg^{-1}
C- to N- ratio	9.5	10.9	-
Organic matter	62.5	50.6	g kg^{-1}
P	0.031	0.025	g kg^{-1}
K	0.158	0.0877	g kg^{-1}
Ca	7.17	1.1	g kg^{-1}
Na	0.0115	0.0129	g kg^{-1}
Mg	0.0541	0.0789	g kg^{-1}
Fe	0.526	0.227	g kg^{-1}
CEC ^a	18.3	10.8	$\text{cmol+.kg}^{-1} \text{ }^b$

^aCEC: Cation Exchange Capacity

^b cmol+.kg^{-1} : centimoles of positive cations per kg of soil

Survie sol désinfecté (irradié)

sol A et B

4 et 22°C

Dénombrement des cellules viables

Survie sol A > survie sol B

Survie 4°C > survie 22°C

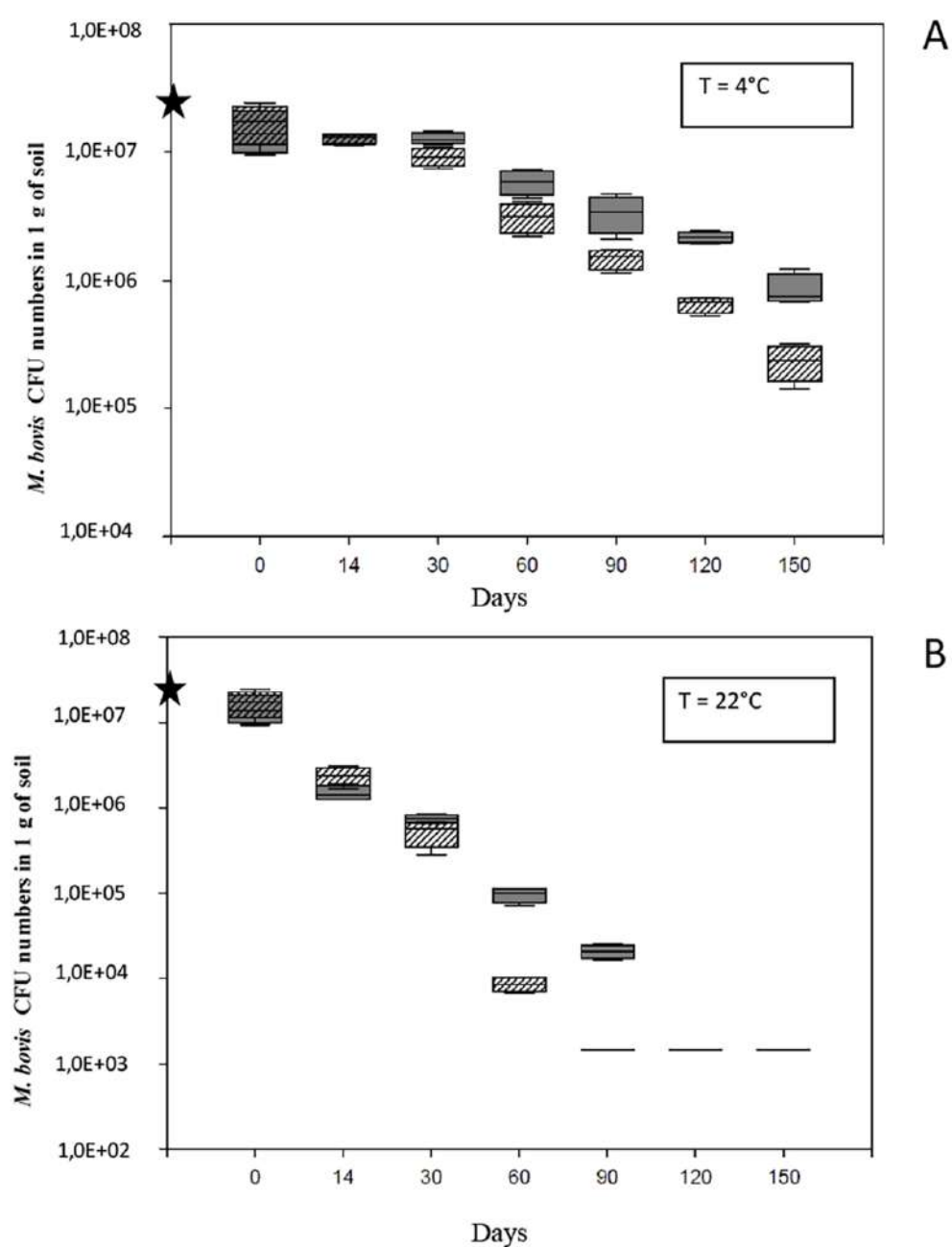


Fig 1. Box-plot graph showing the survival of *M. bovis* SB0120 along the time by a culture-based method in sterile soils: soil A (solid gray symbols) and soil B (symbols with gray stripes) after incubation at 4°C (Panel A) and at 22°C (Panel B). The black star symbol on the y-axis represents the inoculation level of *M. bovis* BCG in soil microcosms. Error bars represent the standard deviation values on 4 replicates.

Comparaison sol stérile / sol naturel

Sol A et sol B

Détection moléculaire =
Nombre de copies d'un gène d'une
séquence répétée

Persistance du signal moléculaire
Sur l'ensemble de la période
d'expérimentation

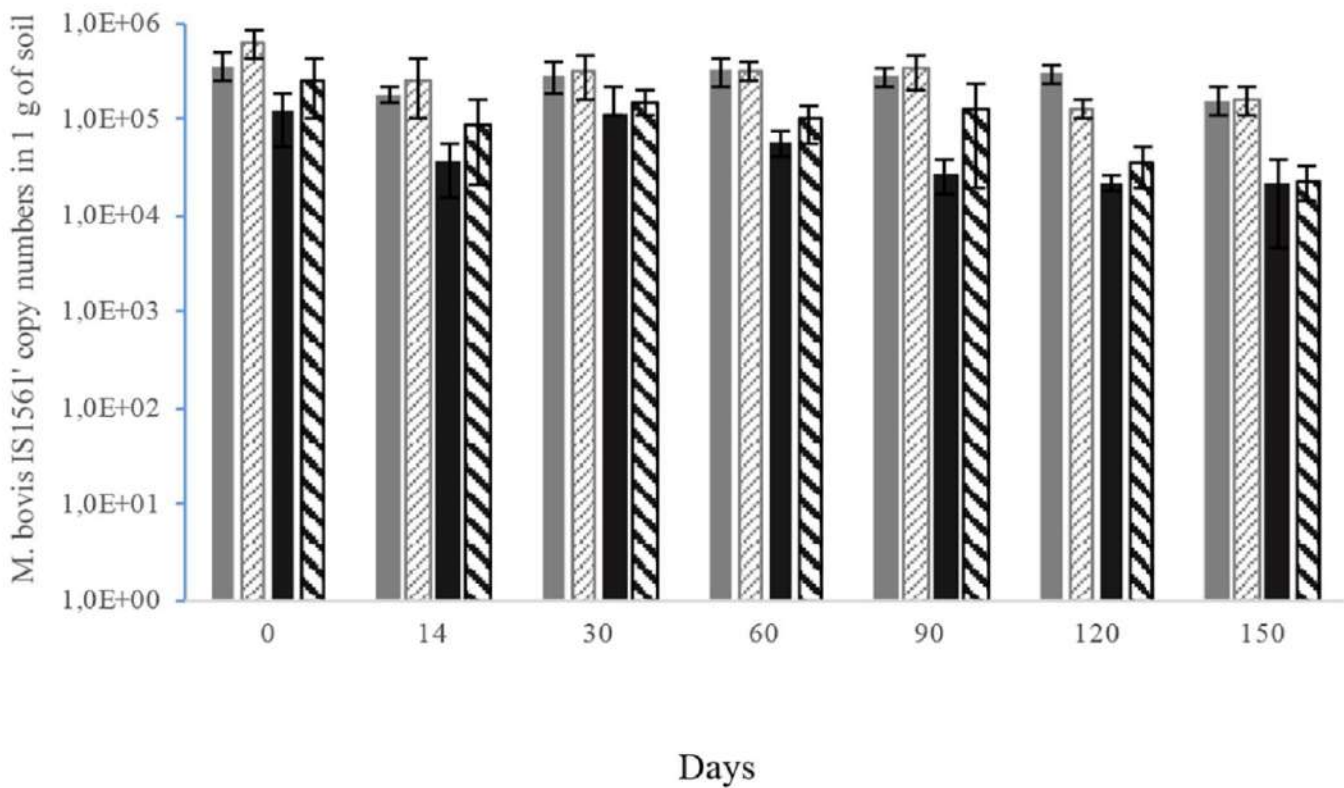


Fig 2. Histogram showing the detection of *M. bovis* gene copy numbers over the time by the IS1561'-based qPCR assay on sterile soil A (solid grey bars), sterile soil B (gray stripe bars) and biotic soil A (solid black bars), biotic soil B (black stripe bars) after incubation at 22°C. Error bars represent standard deviation values on 3 replicates.

Conclusion

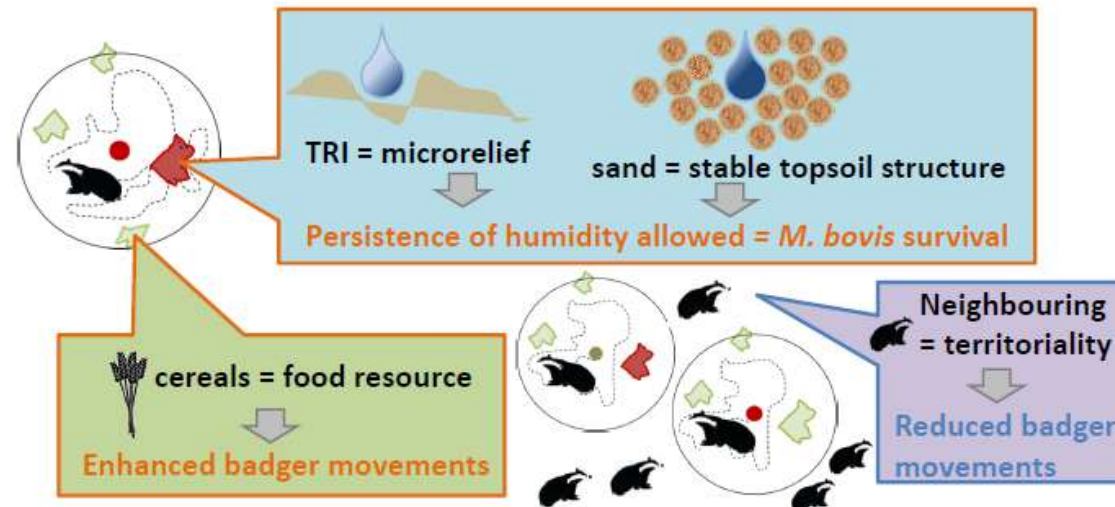
- *M. bovis* **vivant** persiste dans un sol désinfecté (sans microflore) sur des périodes prolongées (120 à 150 jours voir plus)
- On peut raisonnablement penser qu'il persiste également un certain temps dans les sols naturels, mais impossible à démontrer car pas de milieu suffisamment sélectif
- Un sol désinfecté argileux et de pH neutre permet une meilleure survie de *M. bovis* qu'un sol plus sableux et acide.
- Une basse température favorise la survie de *M. bovis* dans un sol désinfecté
- La détection moléculaire permet de détecter la présence d'ADN de *M. bovis*, même lorsqu'il n'est plus détectable par dénombrement (persistance de l'ADN, VBNC ?)

M. bovis chez les animaux sauvages en France – Facteur de risque d'infection

- **Pyrénées-A. Landes 2012 – 2015** (Bouchez-Zacria et al. EJWD 2017)

Variables environnementales associées à l'infection concomitante bovins et blaireaux ?

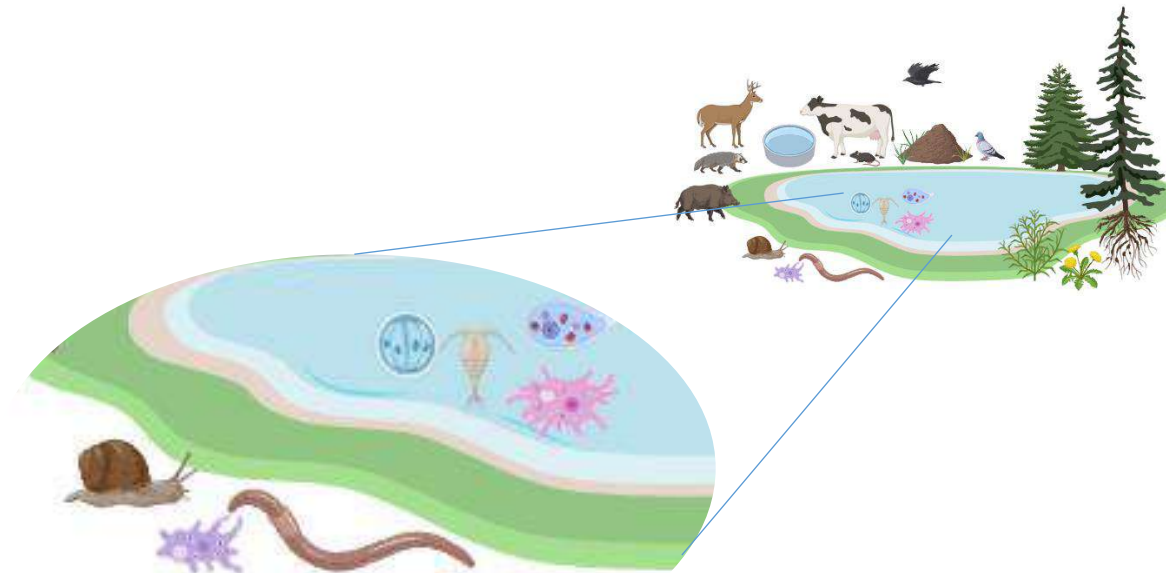
- ↑ avec indice de rugosité de terrain
teneur en sable du sol
présence de parcelles céréales
- ↓ quand nombre de groupes de
blaireaux voisins
- ↑abondance de parcelles de maïs



caractéristiques du terrain, structure des populations de blaireaux et disponibilité des ressources alimentaires influencent propagation de l'infection à *Mycobacterium bovis* entre blaireaux et bovins, conduisant à des infections concomitantes chez les deux espèces.

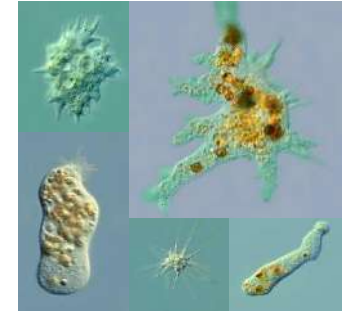
→ **Importance des contacts indirects et de l'écologie des blaireaux (mobilité)**

Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?



Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

Rôle des amibes (transmission indirecte)



Amibes de vie libre (FLA)

- Microorganismes Protozoaires (10 to 100 μm)
 - Nutrition par phagocytose
- Vie libre dans l'eau et sols (différent que les amibes parasites)
- Genres principaux : *Acanthamoeba*, *Vermamoeba* (*Hartmannella*) et *Naegleria*
- FLA considérées des hôtes intermédiaires pour des bactéries pathogènes : *Legionellae*, *Chlamydiae* ...et *Mycobacterium*

Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

Rôle des amibes

Expérimental: Les amibes potentiel hôte de *M. bovis*

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, July 2003, p. 4316–4319
0099-2240/03/\$08.00+0 DOI: 10.1128/AEM.69.7.4316–4319.2003
Copyright © 2003, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 69, No. 7

Infection of *Acanthamoeba castellanii* with *Mycobacterium bovis* and *M. bovis* BCG and Survival of *M. bovis* within the Amoebae

Stephanie J. Taylor, Leena J. Ahonen,[†] Frans A. A. M. de Leij, and Jeremy W. Dale*

*Microbial Sciences Group, School of Biomedical and Life Sciences, University of Surrey,
Guildford, Surrey GU2 7XH, United Kingdom*

Received 12 November 2002/Accepted 17 April 2003

Survival of *Mycobacterium bovis* after ingestion by protozoa would provide an environmental reservoir for infection of cattle. We have shown that *M. bovis* survived ingestion by *Acanthamoeba castellanii*. In contrast, two strains of *M. bovis* BCG did not survive well within *Acanthamoeba*.

Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

Rôle des amibes

Expérimental: *M. bovis* résiste à la digestion des amibes

OPEN ACCESS Freely available online



Mycobacterium tuberculosis Complex Mycobacteria as Amoeba-Resistant Organisms

Felix Mba Medie^{1,2}, Iskandar Ben Salah¹, Bernard Henrissat², Didier Raoult¹, Michel Drancourt^{1*}

¹ Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, UMR 6236 CNRS - Université de la Méditerranée, IRD 189, IFR 48, Faculté de Médecine, Marseille, France, ² Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, AFMB, UMR 6098 CNRS - Université de la Méditerranée, Marseille, France

Abstract

Background: Most environmental non-tuberculous mycobacteria have been demonstrated to invade amoebal trophozoites and cysts, but such relationships are largely unknown for members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. An environmental source has been proposed for the animal *Mycobacterium bovis* and the human *Mycobacterium canettii*.

Methodology/Principal Findings: Using optic and electron microscopy and co-culture methods, we observed that $89 \pm 0.6\%$ of *M. canettii*, $12.4 \pm 0.3\%$ of *M. tuberculosis*, $11.7 \pm 2\%$ of *M. bovis* and $11.2 \pm 0.5\%$ of *Mycobacterium avium* control organisms were phagocytized by *Acanthamoeba polyphaga*, a ratio significantly higher for *M. canettii* ($P = 0.03$), correlating with the significantly larger size of *M. canettii* organisms ($P = 0.035$). The percentage of intraamoebal mycobacteria surviving into cytoplasmic vacuoles was $32 \pm 2\%$ for *M. canettii*, $26 \pm 1\%$ for *M. tuberculosis*, $28 \pm 2\%$ for *M. bovis* and $36 \pm 2\%$ for *M. avium* ($P = 0.57$). *M. tuberculosis*, *M. bovis* and *M. avium* mycobacteria were further entrapped within the double wall of $< 1\%$ amoebal cysts, but no *M. canettii* organisms were observed in amoebal cysts. The number of intracystic mycobacteria was significantly ($P = 10^{-6}$) higher for *M. avium* than for the *M. tuberculosis* complex, and sub-culturing intracystic mycobacteria yielded significantly more ($P = 0.02$) *M. avium* organisms (34×10^4 CFU/mL) than *M. tuberculosis* (42×10^1 CFU/mL) and *M. bovis* (35×10^1 CFU/mL) in the presence of a washing fluid free of mycobacteria. Mycobacteria survived in the cysts for up to 18 days and cysts protected *M. tuberculosis* organisms against mycobactericidal 5 mg/mL streptomycin and 2.5% glutaraldehyde.

Conclusions/Significance: These data indicate that *M. tuberculosis* complex organisms are amoeba-resistant organisms, as previously demonstrated for non-tuberculous, environmental mycobacteria. Intercystic survival of tuberculous mycobacteria, except for *M. canettii*, protect them against biocides and could play a role in their life cycle.

Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

Rôle des amibes

Expérimental: *M. bovis* survie dans des kystes amibiens et infecte la souris

environmental
microbiology



Environmental Microbiology (2017) 00(00), 00–00

doi:10.1111/1462-2920.13810

***Mycobacterium bovis* hosted by free-living-amoebae permits their long-term persistence survival outside of host mammalian cells and remain capable of transmitting disease to mice**

Andrea Sanchez-Hidalgo,¹ Andrés Obregón-Henao,¹
William H. Wheat,² Mary Jackson¹ and
Mercedes Gonzalez-Juarrero^{1*}

¹Department of Microbiology, Immunology and
Pathology, Mycobacteria Research Laboratories,
Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.

²Department of Clinical Sciences, Mycobacteria
Research Laboratories, Colorado State University, Fort
Collins, Colorado, USA.

Introduction

Bovine tuberculosis (TB) is a zoonotic disease caused by *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). The disease has a vast impact on the health of domestic and wildlife species as well as humans (Fitzgerald and Kaneene, 2013). Although cattle are the main hosts of this pathogen, other domesticated and wildlife animals can suffer from *M. bovis*-mediated TB. The disease is found throughout the world and is more prevalent in most of Africa, parts of Asia and

Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

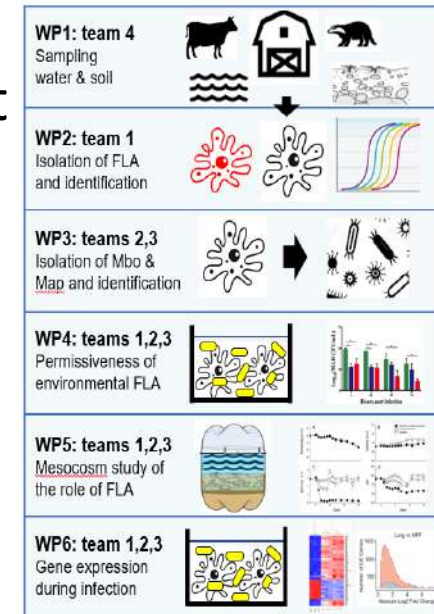
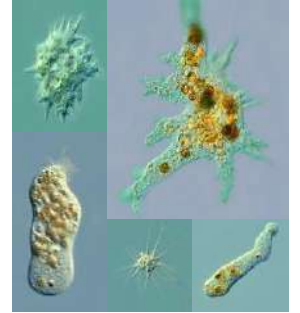
Rôle des amibes

Contexte Collaboration Yan Héchard, U. Poitiers

- Les mycobactéries tuberculeuses et non tuberculeuses peuvent survivre dans des amibes
- Le passage dans les amibes augmente leur virulence: amibes « maintien » et « terrain d'entraînement »
- Hypothèse: rôle dans la persistance, la transmission et l'infectiosité de cette bactérie

Objectif

- étudier la présence éventuelle de *Mycobacterium bovis* dans des amibes et leur rôle potentiel comme vecteur de cette mycobactérie
- la présence d'autres mycobactéries interférant avec le diagnostic de tuberculose sera également recherchée



Circulation dans des hôtes intermédiaires invertébrés?

Rôle des lombrics

Veterinary Microbiology 186 (2016) 1–7



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetmic



Rapid dissemination of *Mycobacterium bovis* from cattle dung to soil by the earthworm *Lumbricus terrestris*



Elodie Barbier^{a,b}, Benoit Chantemesse^{a,b}, Murielle Rochelet^{a,b}, Léon Fayolle^a,
Loïc Bollache^{b,c}, Maria Laura Boschioli^d, Alain Hartmann^{a,*}

^a INRA, UMR 1347 Agroécologie, Dijon Cedex, France

^b Université de Bourgogne Franche Comté, Dijon Cedex, France

^c Laboratoire Chrono-environnement, UMR CNRS 6249 Besançon, France

^d Université Paris-Est, Laboratoire National de Référence de la Tuberculose, Unité des Zoonoses Bactériennes, Laboratoire de Santé Animale, ANSES, Maisons-Alfort Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 December 2015

Received in revised form 28 January 2016

Accepted 30 January 2016

Keywords:

Mycobacterium bovis

Spreading

Earthworms

Lumbricus terrestris

Cattle

Soil

Quantitative PCR

ABSTRACT

Indirect transmission of *Mycobacterium bovis*, the causative agent of bovine tuberculosis (bTB), between wildlife and livestock is thought to occur by inhalation or ingestion of environmental substrates contaminated through animal shedding. The role of the soil fauna, such as earthworms, in the circulation of *M. bovis* from contaminated animal feces is of interest in the epidemiology of bTB. The objective of this study was to assess the impact of earthworm activity on *M. bovis* transfer from animal dung to castings and the surrounding soil. For this purpose, microcosms of soil containing the anecic earthworms *Lumbricus terrestris* were prepared and covered with cattle feces spiked with the *M. bovis* BCG strain Pasteur to carry out two separate experiments. The dissemination, the gut carriage and the excretion of *M. bovis* were all monitored using a specific qPCR-based assay. Our results showed that the earthworm *L. terrestris* was able to rapidly disseminate *M. bovis* from the contaminated cattle feces to the surrounding soil through casting egestion. Moreover, contaminated earthworms were shown to shed the bacteria for 4 days when transferred to a *M. bovis*-free soil. This study highlights for the first time the possible role of earthworms in the dissemination and the persistence of *M. bovis* in soils within bTB endemic areas.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

Lombrics capables de disseminer *M. bovis* d'un sol « infecté »

Capacité de « excréter » pendant 4 jours

Rôle de l'environnement (transmission indirecte)



Sol de pâture : 0/56 en 2013
0/7 en 2014



Filtrats d'eau : 0/5 en 2013
2/62 en 2014



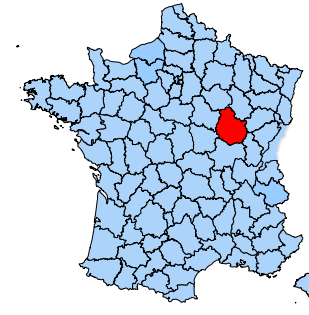
Sédiments : 0/14 en 2013
(sources, ruisseaux) 1/29 en 2014



Latrines : 0/7 en 2013
4/14 en 2014

Barbier et al. 2016a

Détection moléculaire
de *M. bovis*



Côte d'Or

→ Contamination environnementale avec 2 biotopes à risque (réservoirs potentiels (ADN) de *M. bovis*) : **zones humides des pâtures et sols de terriers de blaireau et latrines**

2. Développement d'une puce haut débit



Certaines mycobactéries ou actinomycétales interfèrent dans le **dépistage** et le **diagnostic** de la TB :

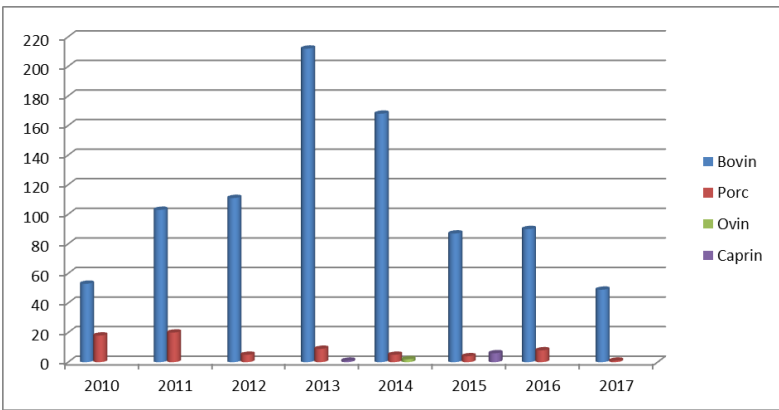
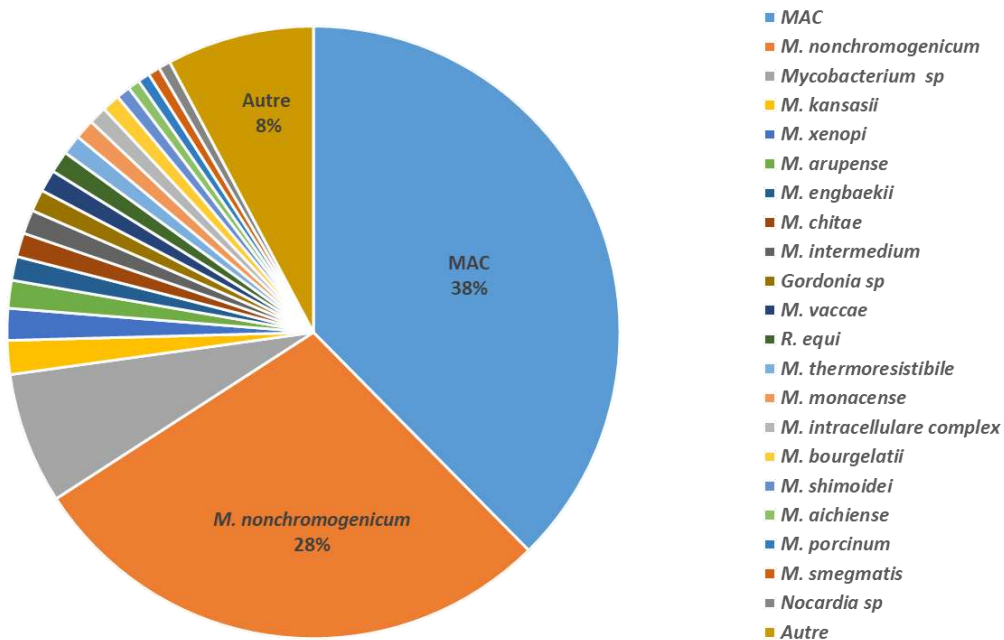
- ***M. microti***
- Complexe de *Mycobacterium avium*
- Complexe de *Mycobacterium terrae* (notamment *M. nonchromogenicum*)
- *M. kansasii* / *M. fortuitum*
- *Rhodococcus equi*

Optimisation des tests de dépistage ↗ Sp au niveau national :

mise de place de l'**intradermotuberculation comparative (IDC)** en prophylaxie
mise en place du **test** de dosage **interféron gamma** en série
(en prophylaxie, en suivi renforcé ou en assainissement)

→ Amélioration mais encore de nombreux cheptels bloqués

Identification des souches de NTM et autres actinomycétales isolées au LNR entre 2010 et 2017



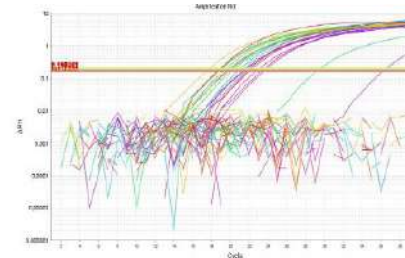
Nombre de souches de MNT entre 2010 et 2017

→ Sélection des espèces à cibler

Classification (Gupta et al, 2018)	Espèces ou genre	Séquence cible
Mycobacterium (clade tuberculosis-simiae)	M. tuberculosis complex (MTBC)	IS6110
	M. bovis	IS1561
	M. microti	RD4
	M. kansasii	MKAN_25265
	M. intermedium	BST27_RS22315
	M. bourgelatii	sodA
	M. avium complex (MAC)	IS1245
	M. avium avium	IS901
	M. avium paratuberculosis	IS900
	M. intracellulare complex (MIC)	CKJ61_23970
	M. shimoidei	BHQ16_09970
	M. xenopi	rubB
Mycolicibacter (clade terrae)	M. engbaekii	lipB
	M. arupense	pacB
	M. nonchromogenicum	AWC18_13700
	M. terrae complex (MTC)	AWC18_05335
Mycolicibacterium (clade fortuitum-vaccae)	M. porcinum	BST41_30145
	M. smegmatis	phoA
	M. monacense	BST34_02370
	M. thermoresistibile	echA8
	M. vaccae	MYVA_5355
	Mycobacterium sp	hsp65
Actinomycétales	Rhodococcus equi	sugE

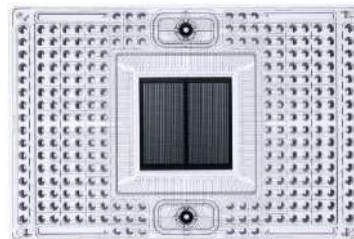
Développement de la puce

- Designs (NCBI, BLAST, génomes complets, bionumerics) et validation en PCR TR

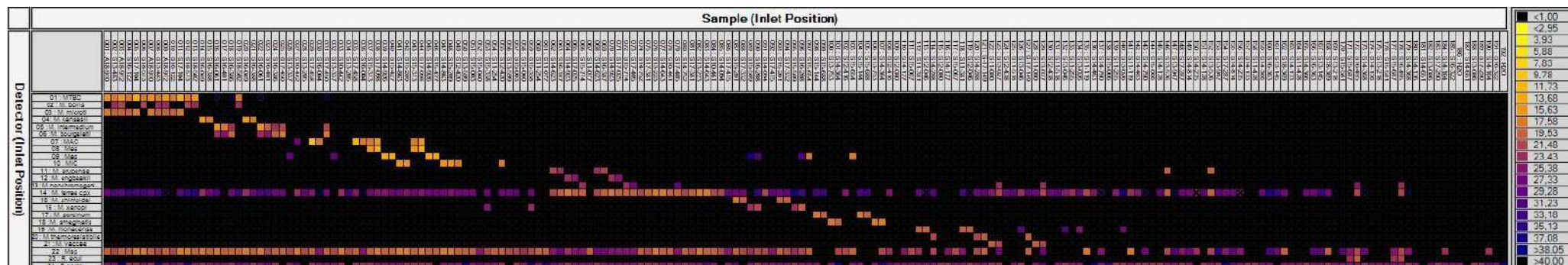


- Tests de spécificité: puce microfluidique Biomark 192 * 24
 - 50 souches à détecter
 - 45 autres espèces du genre *Mycobacterium* ou Actinomycétales

Yassine Makni

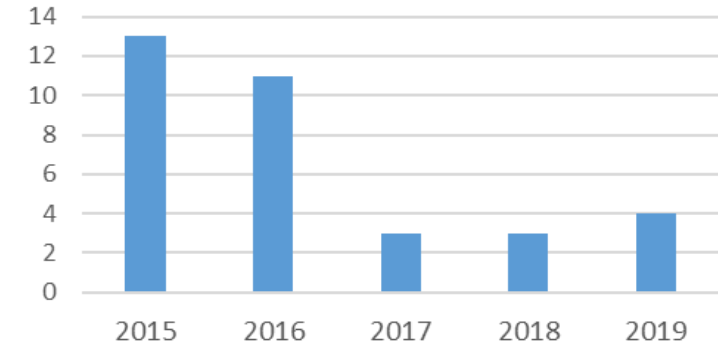
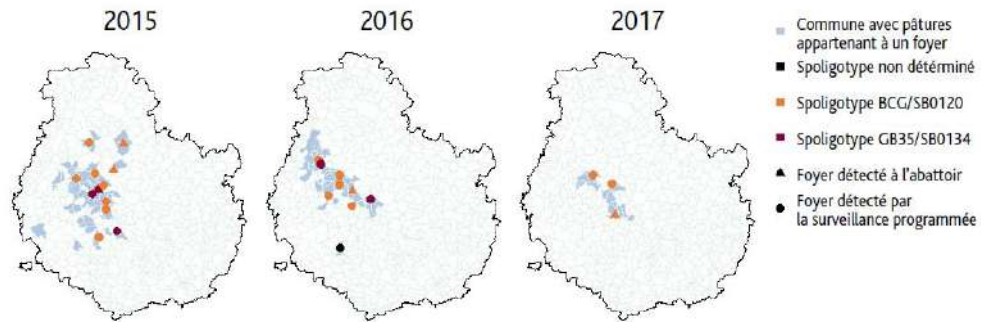


Système validé



Application sur des échantillons de terrain

Foyers de tuberculose bovine en Côte d'Or



Delavenne et al, 2020

Mais aussi réactions non spécifiques aux tests ante mortem

→ recherche des agents qui interfèrent

Des échantillons ont été prélevés en Côte d'Or en 2019 (n=143) dans des pâtures ou dans l'environnement des bovins (cheptels indemnes ou infectés par la tuberculose).

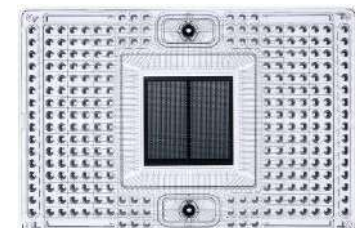
Extraction d'ADN
DNeasy® PowerSoil®

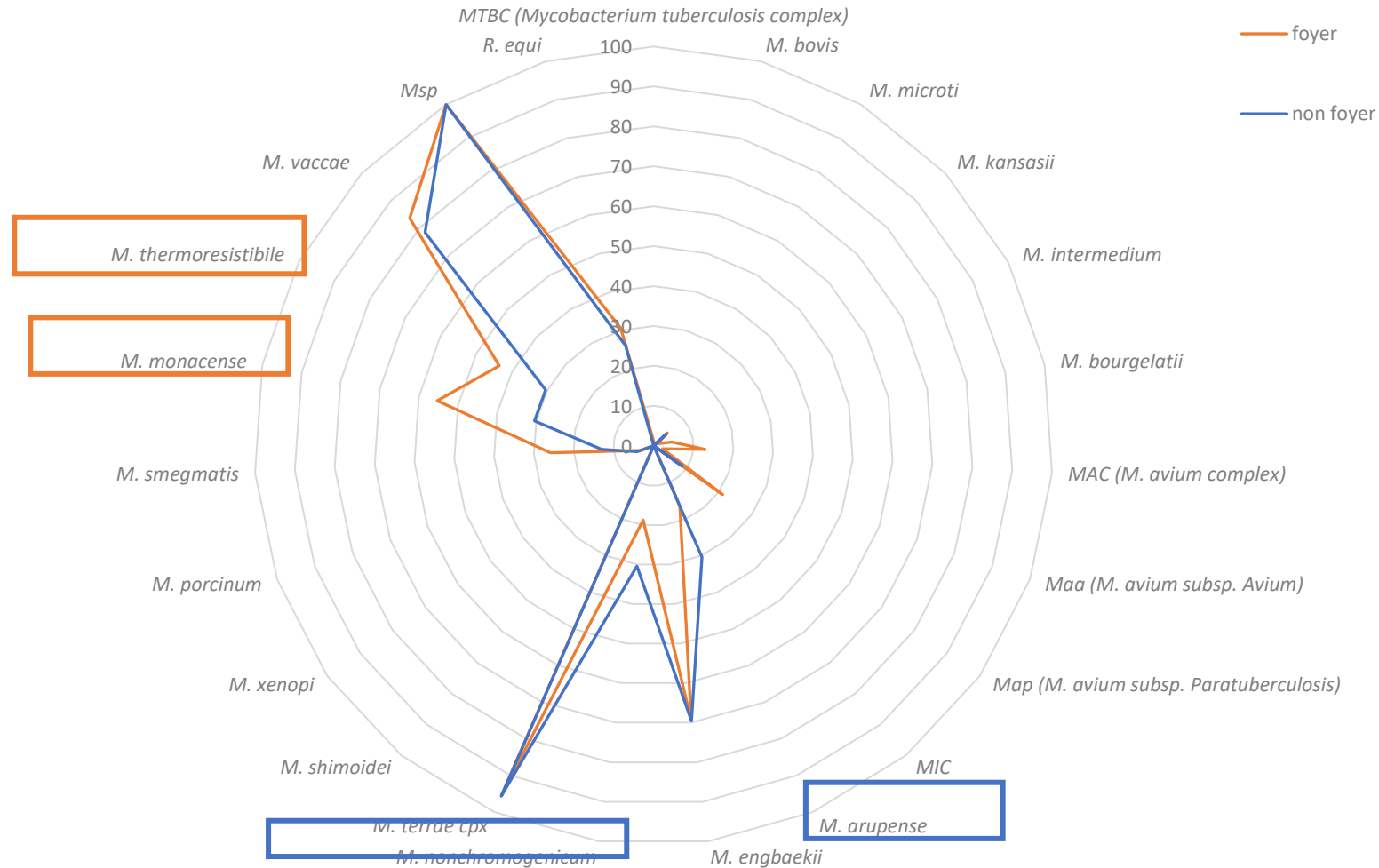


→
Preamplification



→
Puce PCR haut débit
Fluidigm 192.24





Identification de plusieurs espèces de mycobactéries
 Profils différents selon le contexte

Discussion et perspectives

- Différentes mycobactéries détectées dans les deux contextes
→ à confirmer sur un plus grand nombre d'échantillons
- Analyse à affiner :
 - **différence significative?**
 - en fonction de l'importance de la réaction aux tests *ante mortem*
 - échantillonnage à différentes **périodes de l'année**

Cette étude ouvre de **nouvelles perspectives** quant aux **méthodes d'investigations innovantes**

→ intérêt de la technologie de la puce à PCR haut débit pour expliquer des réactions non négatives aux tests de dépistage tuberculose de cheptels indemnes:

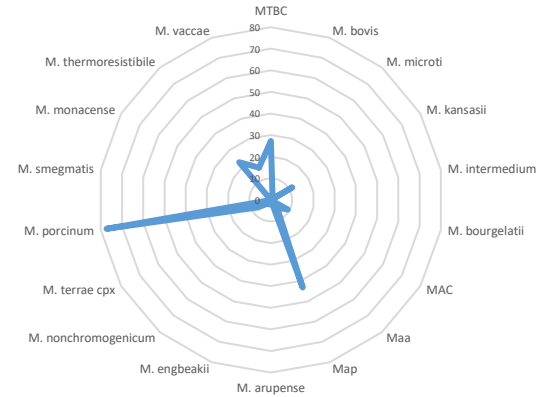
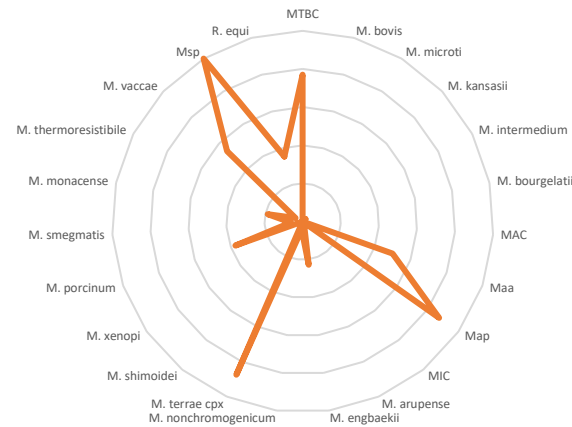
- outils puissant = 4608 PCR simultanées
- flexibilité du système avec la possibilité d'inclure d'autres espèces à cibler

→ possibilité d'étudier des prélèvements environnementaux et des échantillons d'aliments vis-à-vis de nombreuses bactéries

Discussion et perspectives

Cet outil peut être utilisé dans d'autres régions ou contexte:

Dordogne, **Corse**, centre de taureaux reproducteurs



Perspectives d'amélioration des tests de dépistage



Cet outils est également utilisé dans le cadre d'un projet ANR AMITUB



Environmental amoebae, reservoir and vector of bovine tuberculosis and paratuberculosis?



Remerciements



L'équipe du LNR
Maria Laura Boschioli, Jennifer Tambosco et Yassine Makni

La plateforme Identypath
Sabine Delannoy et Patrick Fach



UMR Agroécologie, INRAE, Dijon
Alain Hartmann, Elodie Barbier et Sébastien Solanas



Laboratoire départemental de la Côte d'Or
Eric Guéneau, Virginie Boivin



DDPP de la Côte d'Or
Marie-Eve Terrier, Kamel Benhabria, Elisa Baudon



Je protège mon troupeau

MESURES DE GESTION

*Stéphanie Desvaux - Lorraine Bourgasser -
Alexandre Jobelin - Thomas Cotiby*



TBVAC

PROJET POUR TESTER LA VACCINATION PAR VOIE INJECTABLE DES BLAIREAUX COMME MESURE COMPLÉMENTAIRE À LA LUTTE CONTRE LA TUBERCULOSE BOVINE (TB) NOVEMBRE 2024

Equipe de coordination du projet : Stéphanie Desvaux, Ariane Payne (OFB) - Sandrine Lesellier, Céline Richomme (ANSES) - Pascal Fournier, Christine Fournier, Estelle Isère-Laoué (GREGE)



INTRODUCTION

TEST FAISABILITE DE L'UTILISATION DE LA VACCINATION COMME OUTIL COMPLEMENTAIRE : GENESE DU PROJET TBVAC

Avis Anses 2019

Note OFB-Anses 2021 (cf nouvelles publications depuis l'avis Anses)

Pas de perspective d'obtenir un vaccin oral dans le court ou moyen terme



ENSEIGNEMENT DES EXPÉRIENCES OUTRE-MANCHE 1/3

Faisabilité de la mise en œuvre d'une vaccination injectable sur les populations de blaireaux

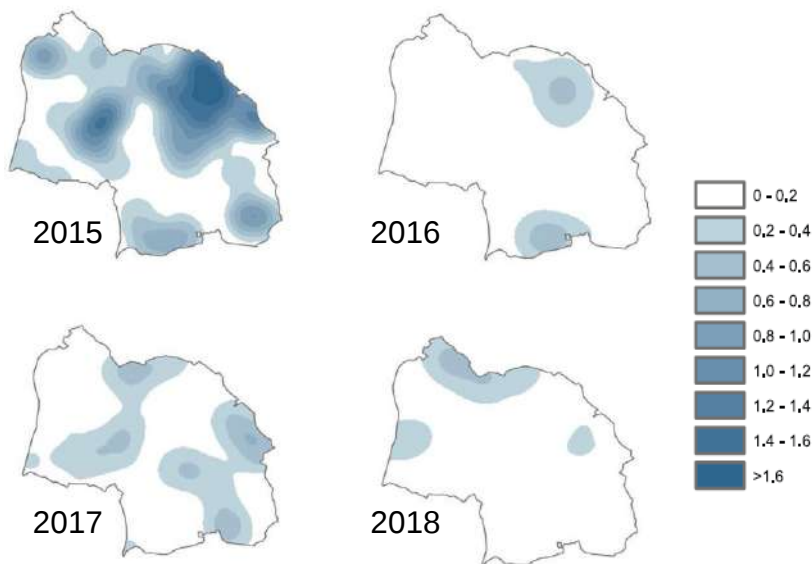
- Etude TVR (Test- Vaccinate – Remove) en Irlande du Nord (100 km²)
- Déploiement à large échelle en République d'Irlande depuis 2018 (19 000 km² surface avec 100% vaccination en 2021 contre 18 000 km² pour les zones d'abattage)

Et stabilisation des taux de prévalence chez les bovins suite à la vaccination des blaireaux après abattages ciblés autour des fermes avec des bovins positifs (République d'Irlande, Martin et al, 2020)

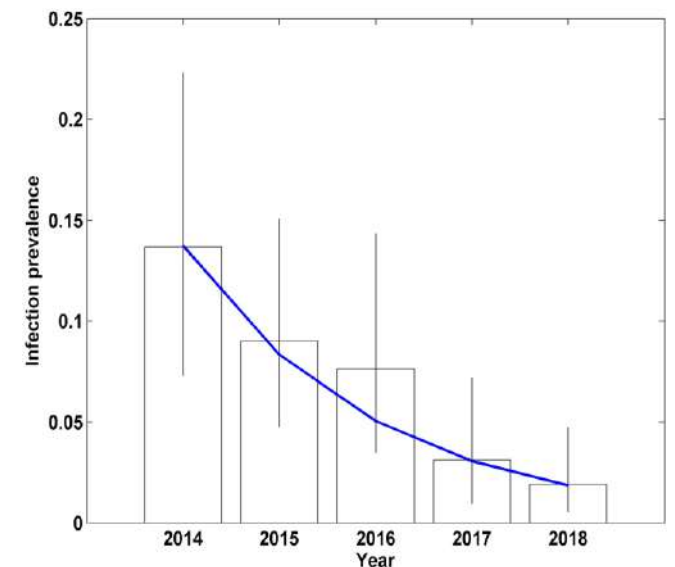
ENSEIGNEMENT DES EXPÉRIENCES OUTRE-MANCHE 2/3

La vaccination des populations de blaireaux réduit le taux d'infection des populations vaccinées: expérience Irlande du Nord (Arnold et al, 2021) / République d'Irlande (Gormley et al, 2021, Gormley et al, 2017, Aznar et al, 2018) / Angleterre (Smith et al 2021)

Nombre annuel de tests
DPP positifs dans la zone
d'étude TVR (2015-2018)



Estimation de la prévalence
de l'infection à la tuberculose
bovine chez les blaireaux
dans la zone d'étude TVR
(2014-2018)



ENSEIGNEMENT DES EXPERIENCES OUTRE-MANCHE 3/3

Effet protecteur du groupe: réduction de la probabilité d'infection pour les jeunes non vaccinés appartenant à un groupe dans lequel plus d'1/3 des membres sont vaccinés (Carter, 2012, Gormley, 2021)

Innocuité du BCG par voie injectable: pas d'excrétion fécale ou urinaire (Lesellier et al, 2006)

Les manipulations pour la vaccination n'induisent pas de mouvements importants des animaux vaccinés (O'Hagan et al, 2021)

LE MONTAGE DU PROJET



Laboratoire
départemental
d'Analyse et de
Recherche

Pilotage :

Pilotage projet = **OFB (coordination générale / collecte données) + Anses (coordination labo)**

Mise en œuvre terrain: **GREGE** agréé Etablissement d'Expérimentation Animale sur la faune sauvage (Agrément sur les espèces de Petits Carnivores)

Financement :

DGAL pour 4 ans de terrain (2023-2026)

+ OFB (frais terrain cheffe projet + matériel de capture + puces + produits pharmaceutiques + appui financier pour développement matériel contention et études densité)

+ Anses (vaccins)

+ LDAR 24 (tests rapides)

Partenaire : LDAR 24

Le projet s'inscrit dans le cadre de l'UAFS (utilisation d'animaux à des fins scientifiques – une Demande d'Autorisation de Projet a été obtenue auprès du Ministère de la Recherche)



OBJECTIFS DU PROJET

Objectif général :

Développement de méthodes alternatives à l'abattage pour la gestion des maladies

Questions scientifiques :

- Quelle est la **faisabilité technique et pratique** d'une **vaccination injectable** sur des populations de blaireaux dans les zones les plus infectées par la tuberculose ?
- Quel est l'**effet d'une vaccination** des populations de blaireaux sur les taux de prévalence après déploiement pendant 4 ans ?

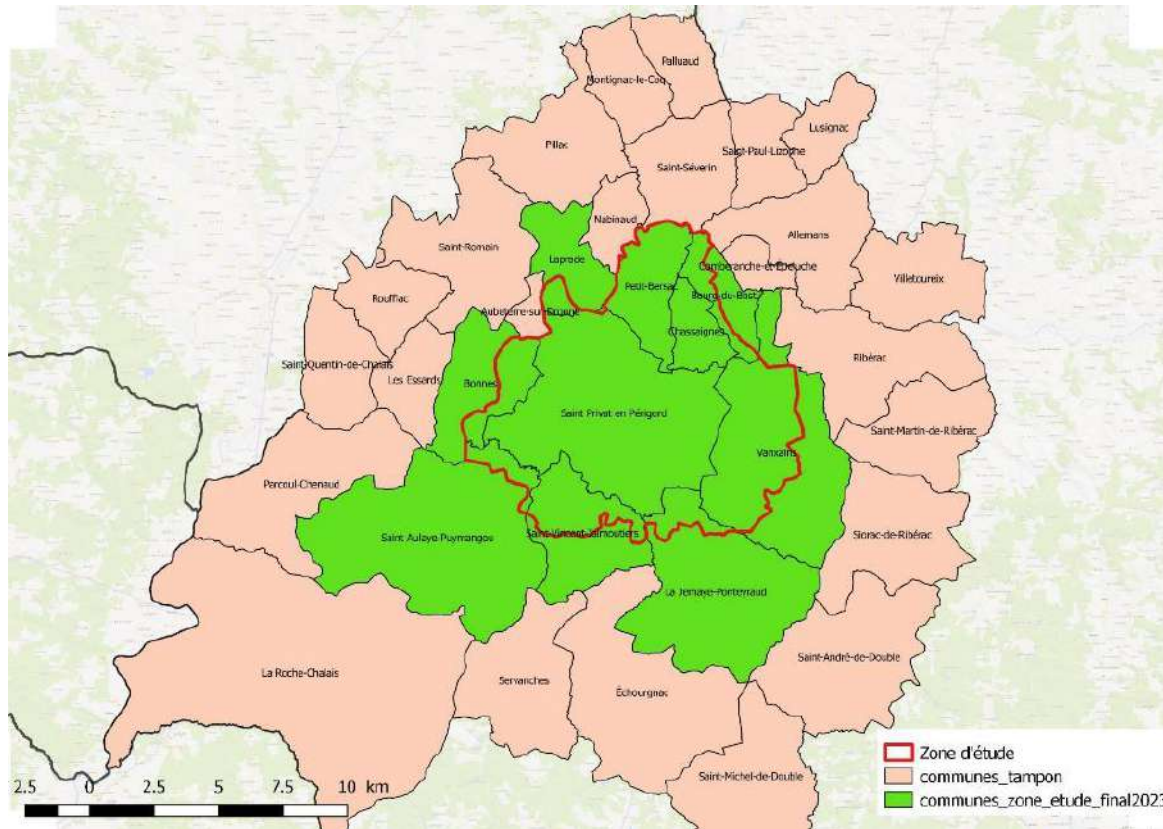
Finalités opérationnelles :

- Phase 1 : **Phase pilote** pour le déploiement terrain et phase de collecte de données
- Phase 2 : **Transfert de la méthode** - Déploiement à plus large échelle

LE PROTOCOLE TERRAIN

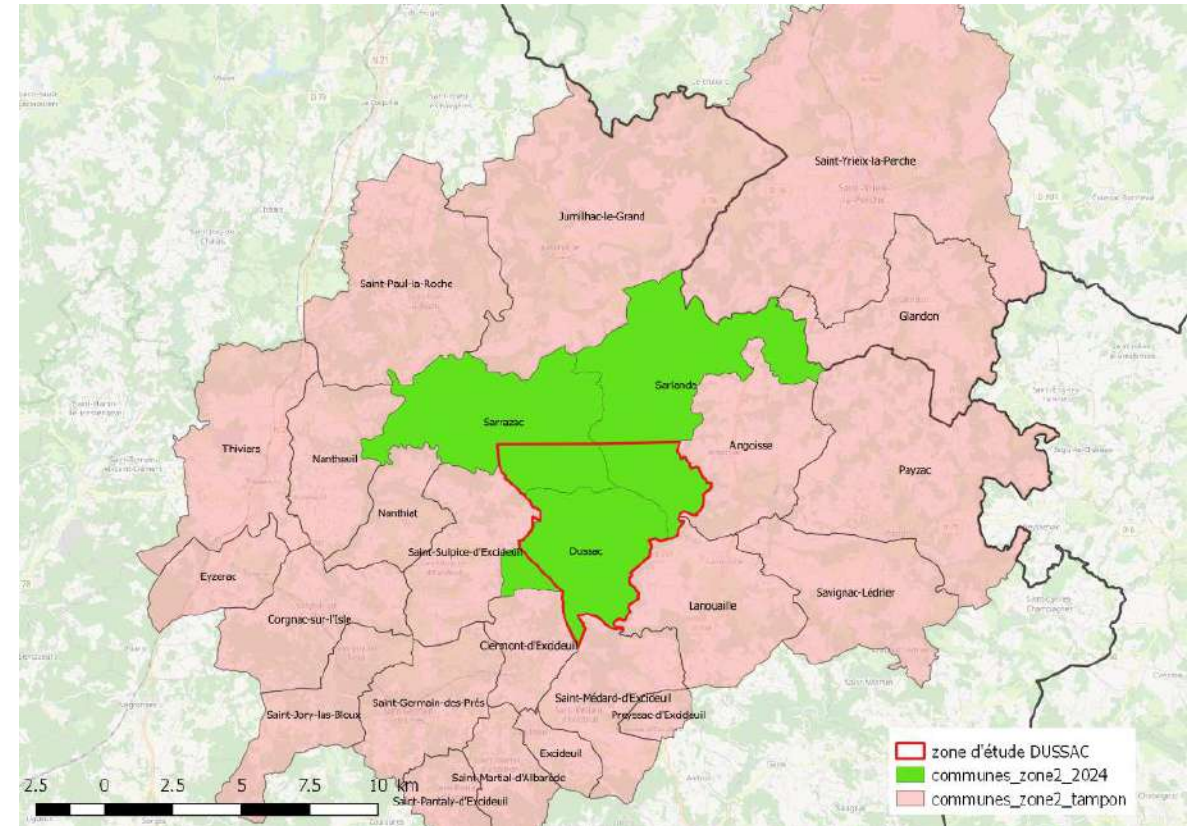
ZONES D'ÉTUDE 2024 (DORDOGNE)

Zone 1 : Saint-Privat-en-Périgord



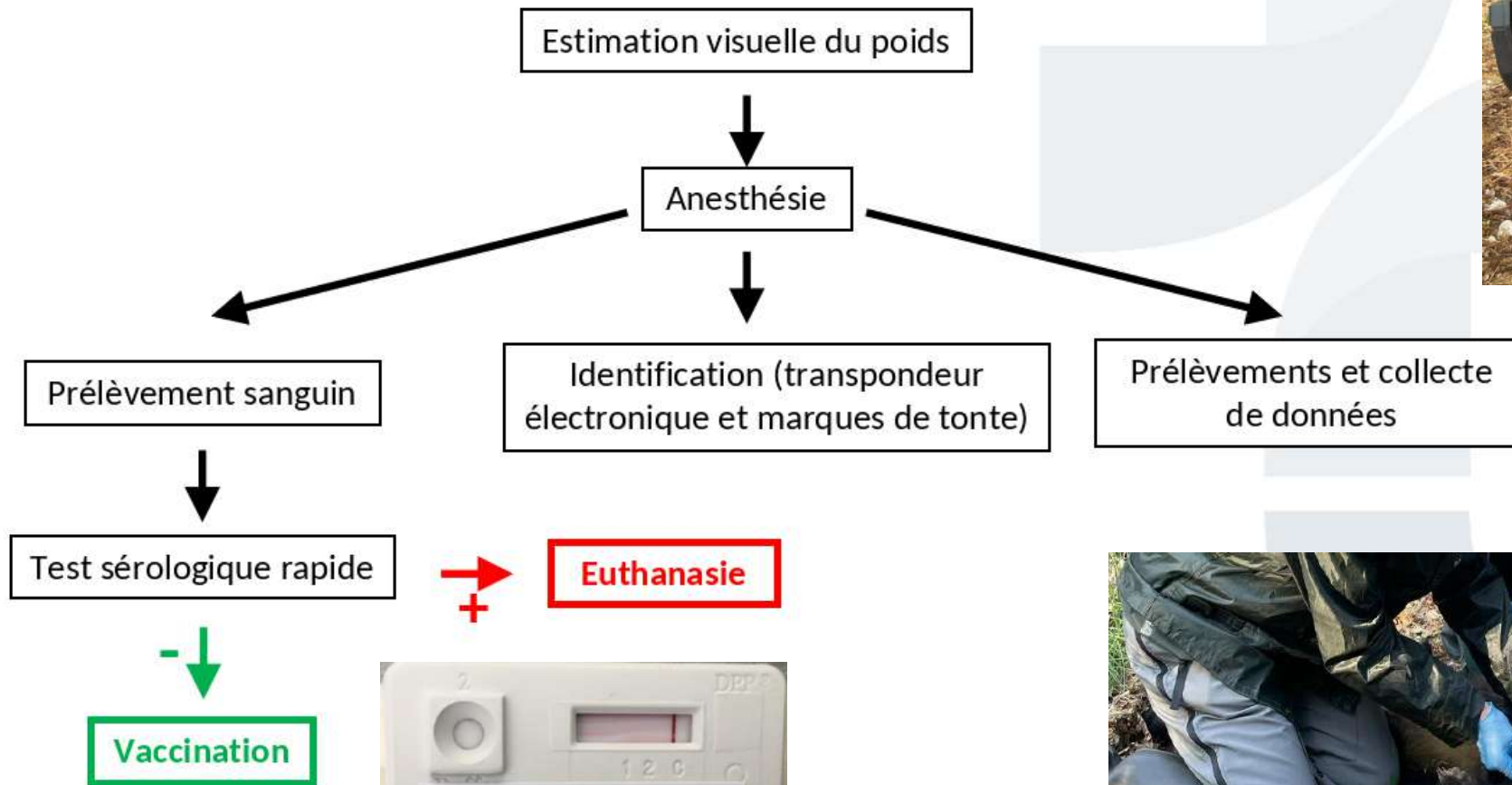
100 km² dans le Ribéracois (8 communes du dpt 24 + 2 parties de communes du dpt 16 pour se caler sur une limite naturelle, la Dronne)

Zone 2 : Dussac



35 km² (4 parties de communes du dpt 24)

MANIPULATIONS



LES RESULTATS DES 2 PREMIERES ANNEES DE MISE EN OEUVRE

RESULTATS 2023 ET 2024

	SAINT-PRIVAT				DUSSAC
	Printps 2023	Autom. 2023	Printps 2024	Toutes saisons	Printps 2024
Nb de terriers différents piégés	59 (53 réellement actifs)	19	51 (10 qu'avec cages)	129 (55 en moyenne / saison)	28
% de terriers différents avec capture	22,0% (n=13)	21,1% (n=4)	29,4% (n=15)	45,5% (n=25)	42,9% (n=12)
Nb de complexes de terriers piégés	49 (46 réellement actifs)	17	45 (9 qu'avec cages)	108 (45 en moyenne / saison)	22
% de complexes différents avec capture	26,5% (n=13)	23,5% (n=4)	33,3% (n=15)	55,6% (n=25)	54,5% (n=12)
Nb de terriers différents vaccinés	12	4	13 (incluant 9 nouveaux / 2023)	22	10
% de terriers différents vaccinés (sur total terriers actifs)	22,6%	22,2%	25,5%	40,0% (avec 55 terriers actifs)	35,7%
Nb de complexes de terriers vaccinés	12	4	13 (including 8 new/2023)	21	10
% de complexes différents vaccinés (sur total complexe terriers actifs)	26,1%	23,5%	28,9%	46,7% (avec 45 complexes actifs)	45,5%
Nb total de captures de blaireaux	15	5	20	40 (12J+28A)	16 (1J+14A+1NA)
Nb de primocaptures	14	3	18	35 (19M+16F)	15 (8 M+7 F)
Nb de recaptures / échappé	1	2	2	5	1
Nb de blaireaux détectés positifs	2	0	3	5	2
% de blaireaux détectés positifs	14,3%	0,0%	16,7%	14,3%	13,3%

INFORMATION DENSITÉ TERRIERS

Saint – Privat:

- 100 km²
- 141 terriers dont 55 actifs en moyenne par campagne de vaccination (pour 45 complexes de terriers*)
- Population estimée entre 60 et 90 individus (médiane 75)

Dussac

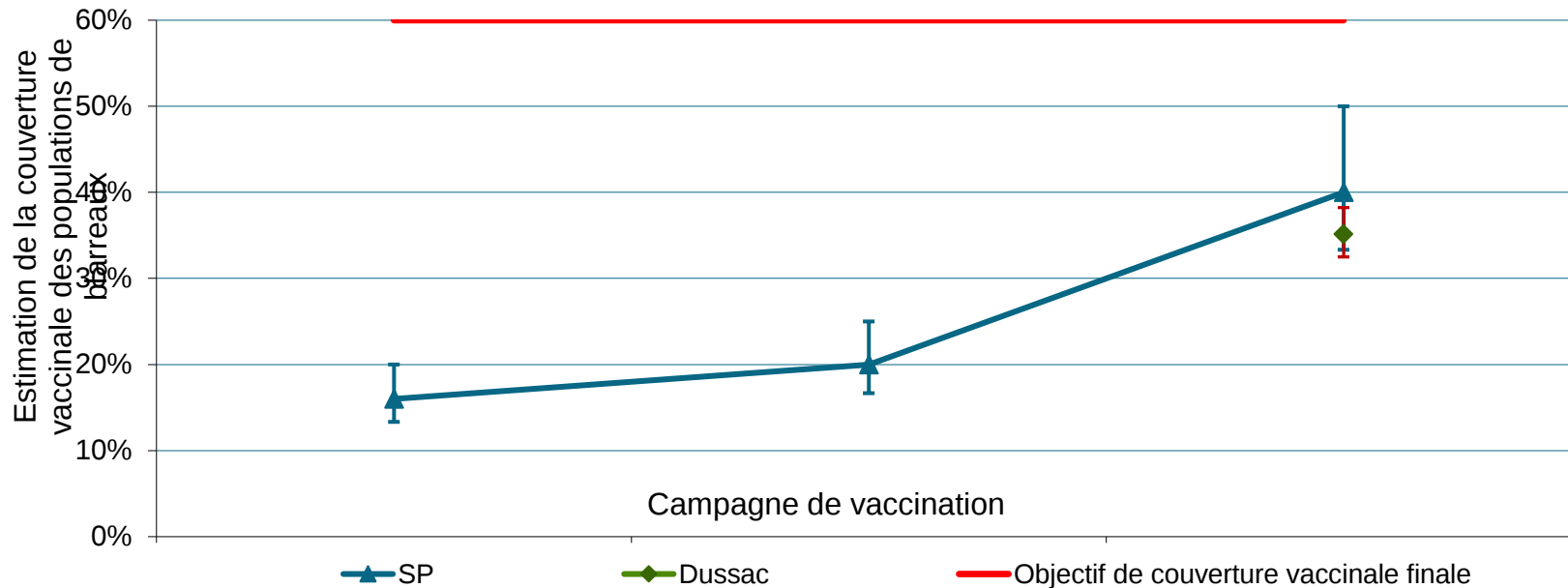
- 33 km² principalement autour des pâtures de foyers bovins
- 35 terriers dont 27 actifs identifiés en année 2 (pour 22 complexes de terriers*)
- Population estimée entre 34 et 40 individus (médiane 37)

**Les terriers sont regroupés en complexes en utilisant une distance entre terriers de 150m*

ESTIMATION DE LA COUVERTURE VACCINALE

Estimation du taux de vaccination cumulé de la population de blaireaux par zone et par campagne (les limites hautes et basses sont calculées en utilisant les estimations minimales et maximales des populations de chacune des zones)

SAINT-PRIVAT				DUSSAC
Printps 2023	Autom. 2023	Printps 2024	Toutes saisons	Printps 2024
16% (13,3%-20%)	20% (16,7%-25%)	40% (33%-50%)	40% (33%-50%)	35,1% (32,5%-38,2%)



→ Le taux de pénétration de la vaccination progresse:

- l'objectif de 60% de la vaccination de la population semble atteignable au bout des 4 années de projet
- Plus d'1/3 des terriers avec au moins un blaireau vacciné (cf diapo précédente)

LA SUITE...

QUEL MODÈLE D'ORGANISATION POUR UN DÉPLOIEMENT A PLUS LARGE ECHELLE?

Figure 10 : modèle d'organisation des acteurs pour une vaccination du Blaireau contre la tuberculose bovine en France



ENSV-FVI VETAGRO SUP

Année 2024

Construction d'un modèle d'organisation des acteurs pour le déploiement à large échelle de la vaccination du Blaireau dans le cadre de la lutte contre la tuberculose bovine

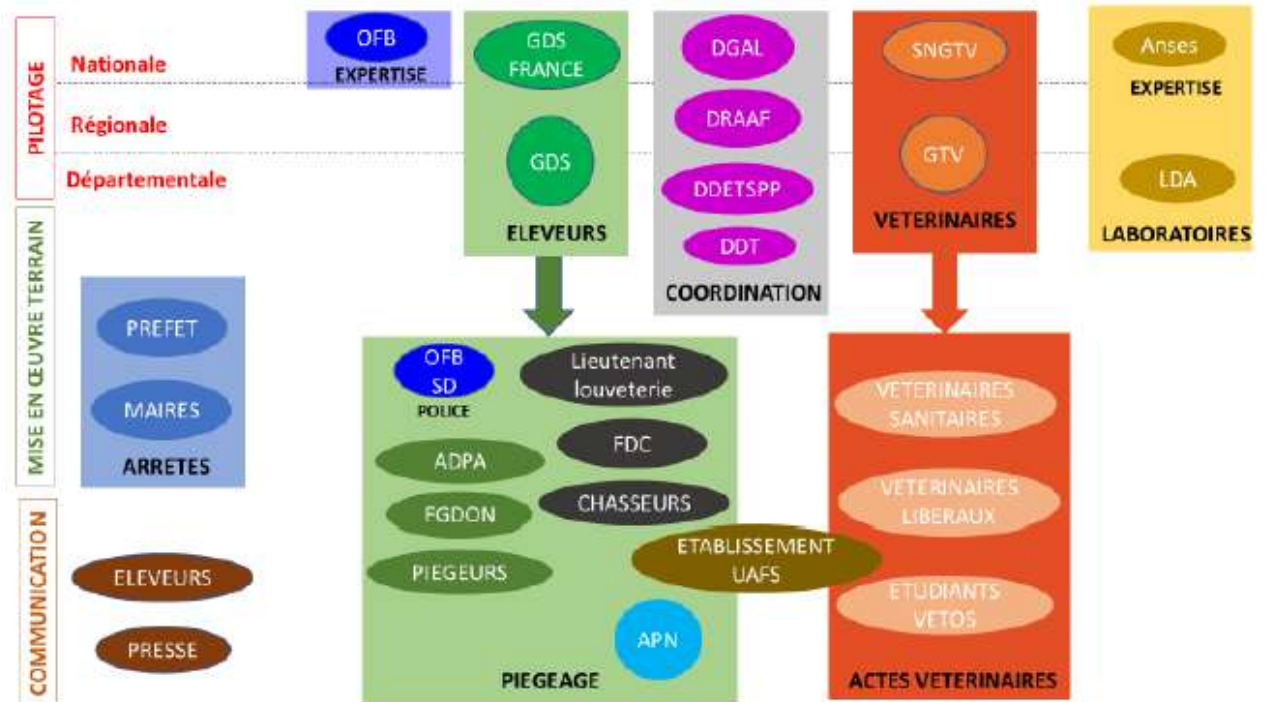
Mémoire de stage

Soutenu publiquement le 28 août 2024
Pour obtenir le diplôme :

DIE/CEAV en Santé Publique Vétérinaire

Par

BELCHIOR Emmanuel



Le modèle, construit d'après les résultats de cette enquête, propose de s'appuyer à la fois sur les acteurs en charge de la santé publique vétérinaire (GTV, GDS) et sur ceux actuellement impliqués dans la surveillance et la lutte contre la TB dans la faune sauvage (chasseurs-piégeurs), tout en envisageant un rapprochement avec les APN comme nouvel acteur qui œuvrerait pour l'Etat.

STRATEGIE POUR LA PHASE 2 DU PROJET (PREPARATION AU DEPLOIEMENT)

-Adapter et tester une procédure allégée au maximum (*appui CDD 2025*)

Objectif = formation réduite pour les futurs manipulateurs (cf gestes simplifiés) + temps manip plus court cf temps d'attente trop long pour les animaux capturés si > 3 blx / jour

-Etude du modèle de déploiement: qui et comment? (*stage ENSV printps-été 2024 à poursuivre*)

- Travailler sur les stratégies vaccinales (*thèse FCPR + thèse éco-épidémio OFB/Anses ?*) :

- Vaccination ciblée versus large,
- En réaction ou en prévention
- Avec ou sans dépistage...

- Evaluer plus finement les coûts (*mission complémentaire FCPR + thèse éco-épidémio OFB/Anses ?*)

- Préparer la transmission : supports formations... (*appui CDD 2025*)

- Définir un système de collecte de données pour suivre la vaccination et la prévalence dans les zones vaccinées (*appui Plateforme à solliciter dans cadre travail sur données TB sylvatub*)

PERSPECTIVES RELATIVES AUX TESTS DIAGNOSTIQUES ET A LA VACCINATION ORALE

Suivi de la protection vaccinale : immunité antituberculeuse surtout cellulaire, pas de corrélat de protection en immunité humorale (à la différence de vaccination antivirale, ex. rage)

→ difficultés sur le terrain pour suivre le taux de protection vaccinale par test sérologique

→ besoin de poursuivre les travaux sur les tests immunologiques cellulaires (PhD en cours en Dordogne –Debby Bonnaire)

Perspective de vaccin par voie orale :

→ travaux conduits entre 2010 et 2019 sur animaux captifs et sur le terrain en Angleterre, en France et en Espagne

→ pas de vaccin opérationnel pour le moment et d'autres études expérimentales nécessaires pour notamment optimiser la délivrance dans la cavité buccale des blaireaux après mastication de l'appât

→ travaux en stand-by depuis 2019 en l'absence de financement

Merci de votre attention,



État des lieux des connaissances sur les freins et les leviers à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage bovin : apport des sciences humaines et sociales

Thèse de doctorat en cours : Évaluation multicritère des mesures de biosécurité en élevage bovin pour lutter contre la tuberculose bovine : prise en compte d'aspects techniques, économiques et sociologiques

Lorraine Bourgasser

Equipe encadrante

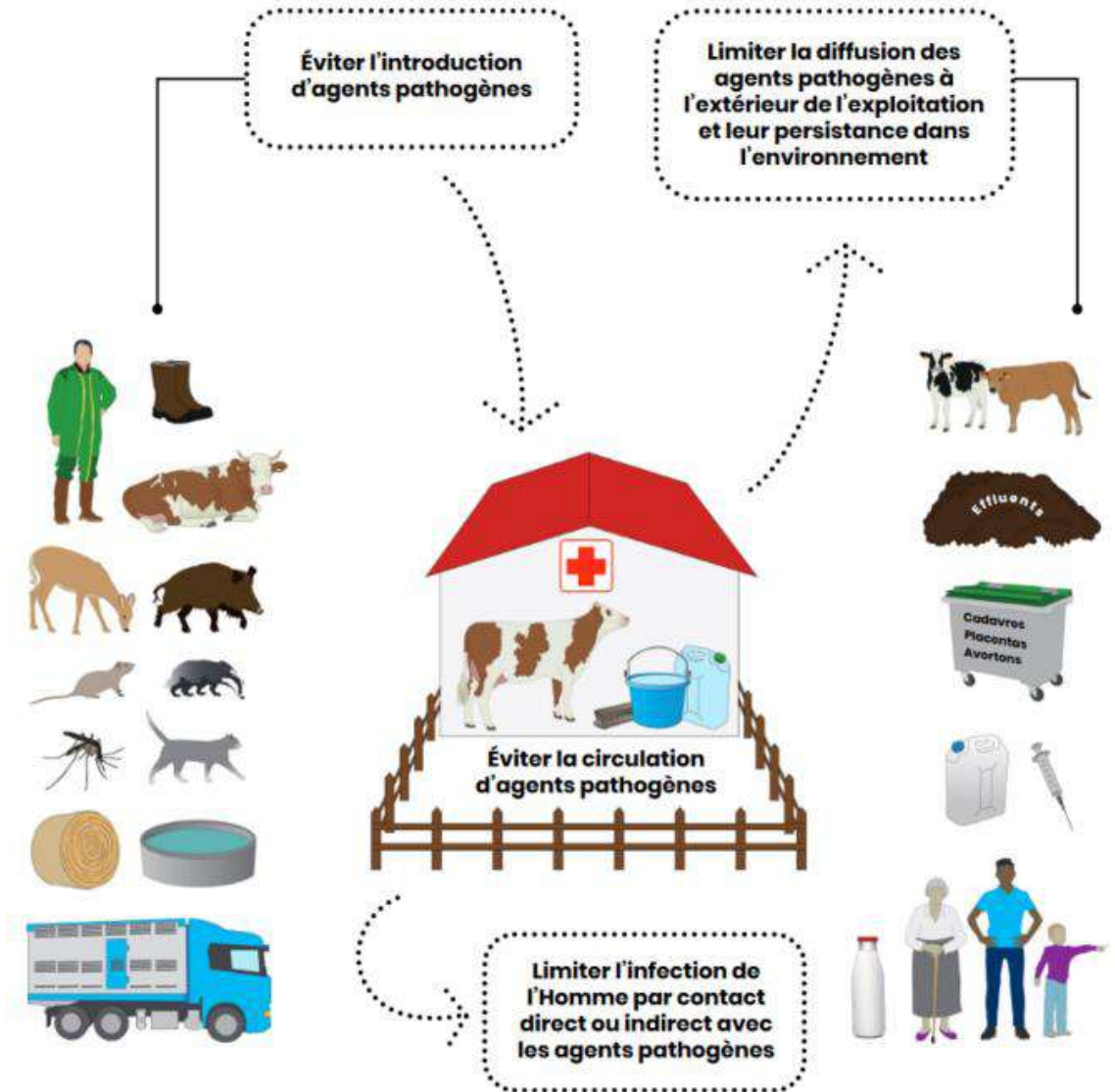
Directrice de thèse : Julie Rivière (HDR, EpiMIM, Équipe mixte de recherche Enva-Anses)

Co-encadrants :

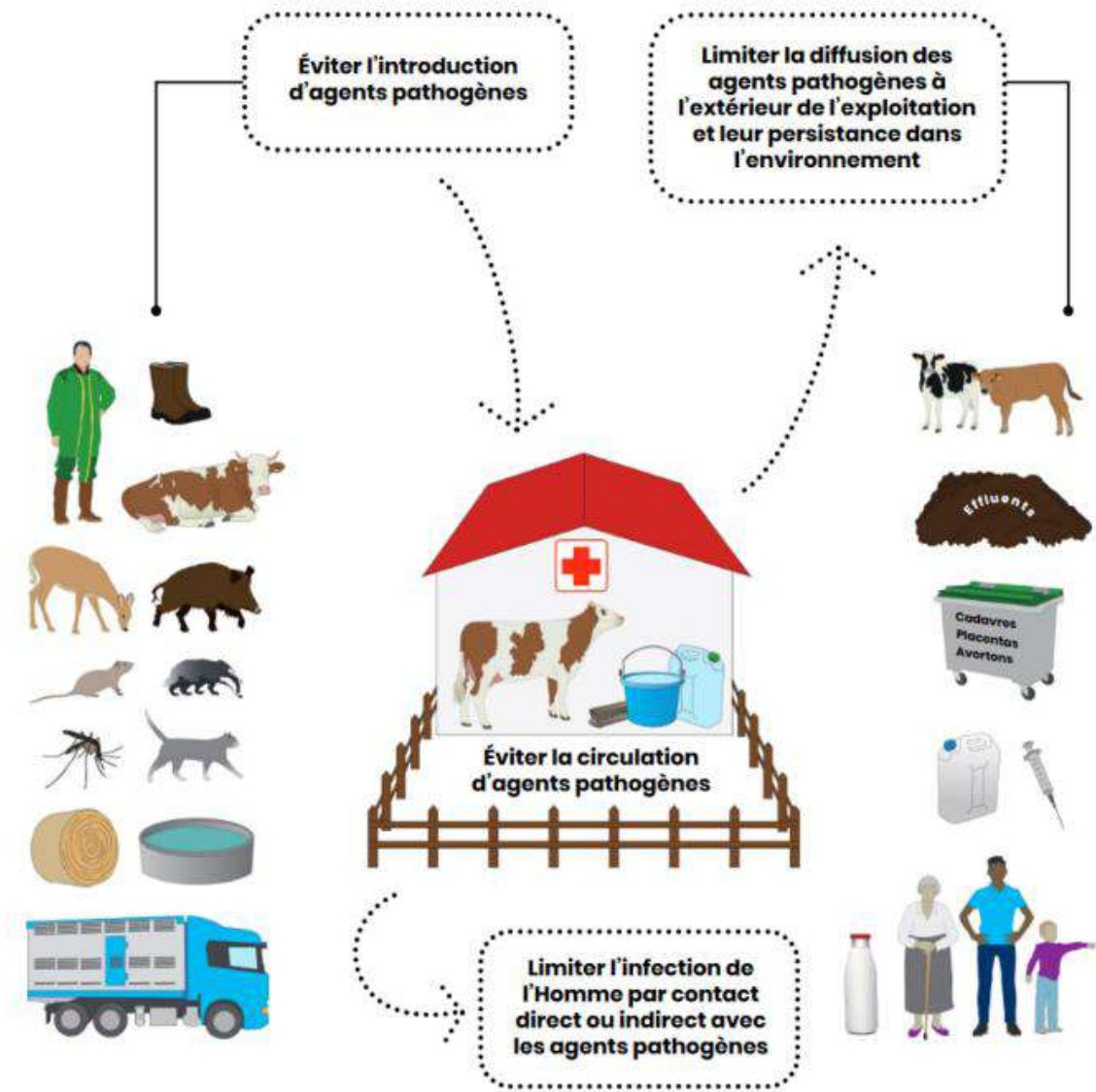
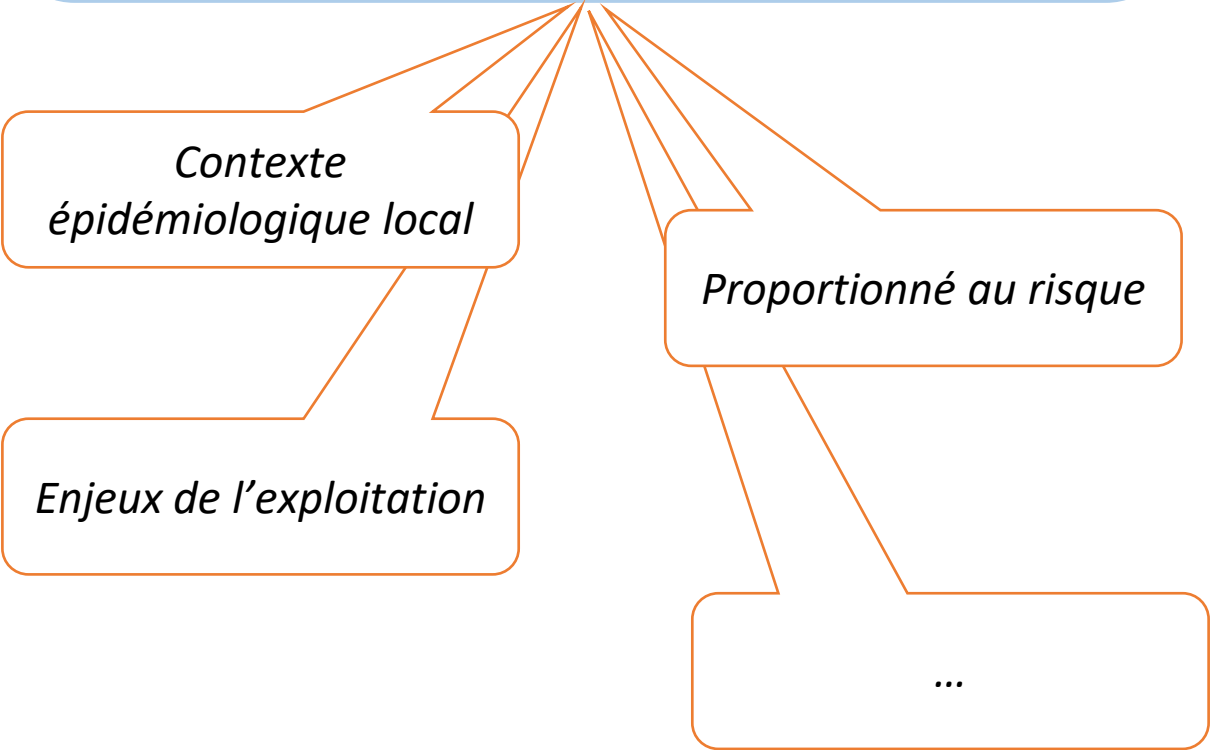
Valentine Guétin-Poirier (EpiMIM, Équipe mixte de recherche Enva-Anses)

Alexandre Hobeika (UMR MoISA CIRAD)

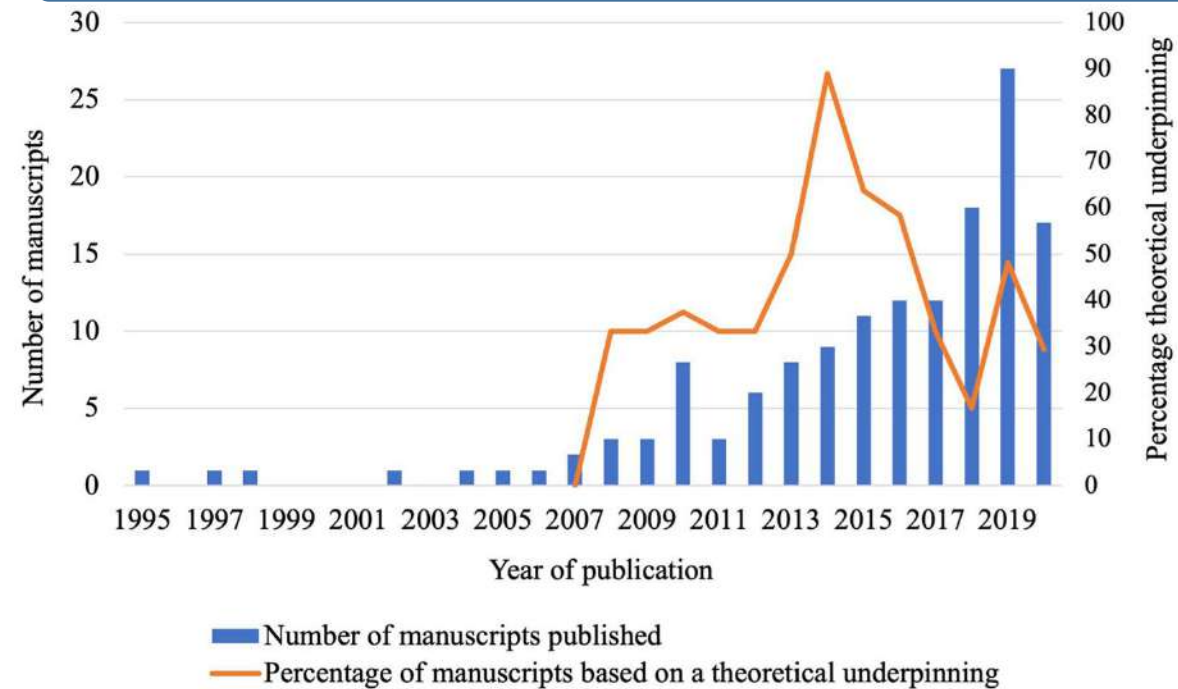
Approche préventive permettant de limiter les risques d'introduction, de circulation et de propagation des maladies animales en élevage



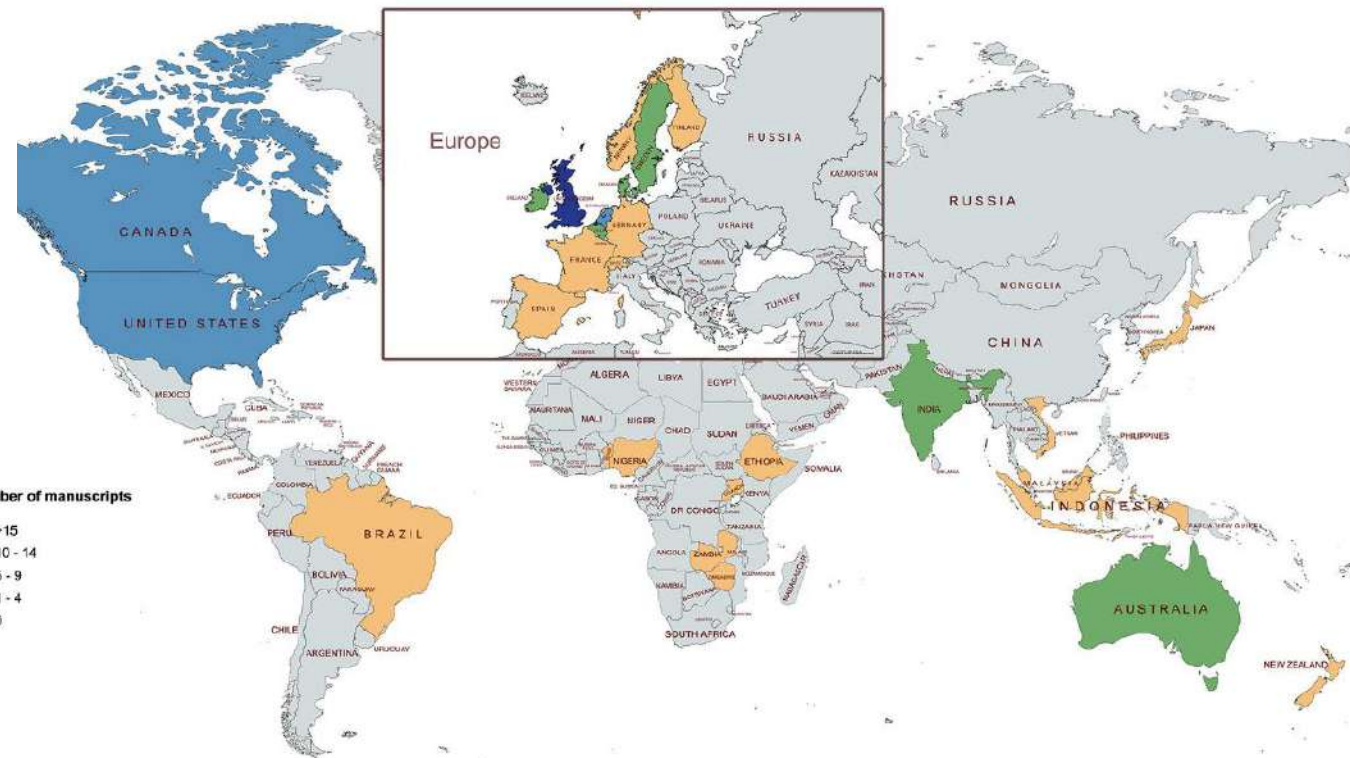
Approche préventive permettant de limiter les risques d'introduction, de circulation et de propagation des maladies animales en élevage



L'apport des sciences humaines et sociales : état des lieux des recherches



Nombres et distribution géographique des articles publiés sur le comportement des agriculteurs face aux maladies du bétail entre 1995 et 2020 (Pubmed ou Web of Science)



*Des décisions guidées
par...*



L'apport des sciences humaines et sociales : influence de facteurs multiples dans les processus de prise de décision

*Des décisions guidées
par...*

Coûts

Bénéfices

Risque perçu

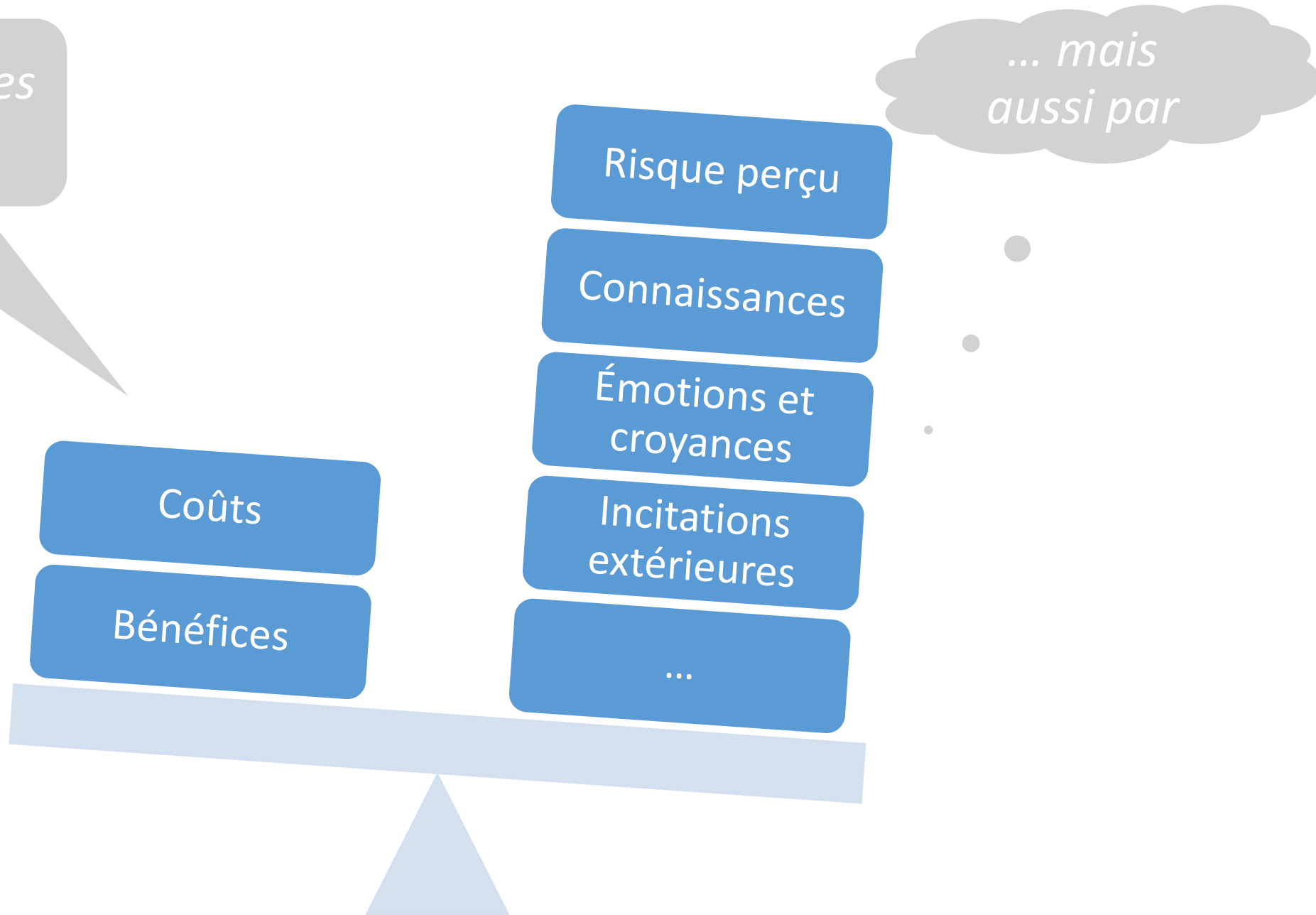
Connaissances

Émotions et
croyances

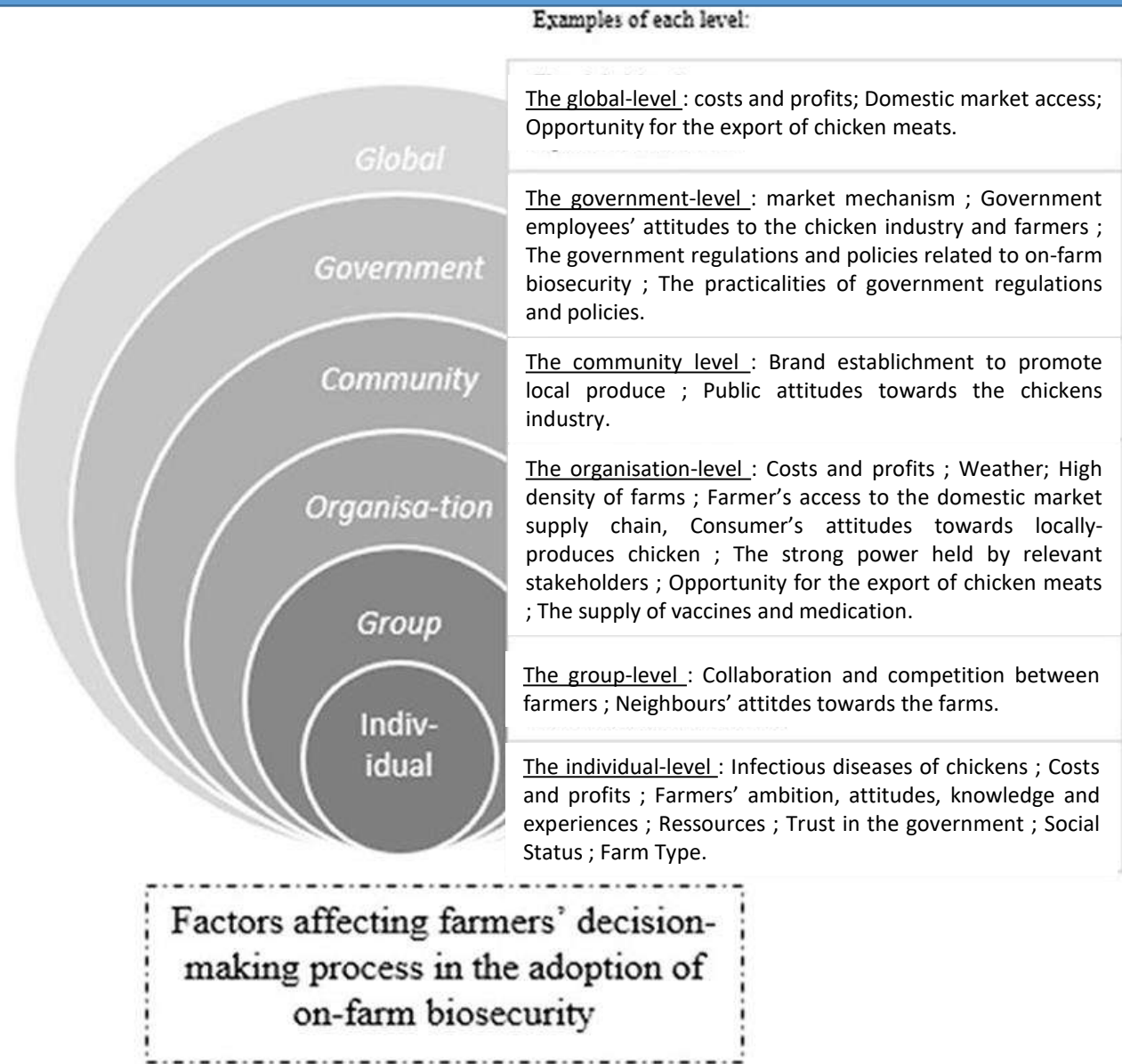
Incitations
extérieures

...

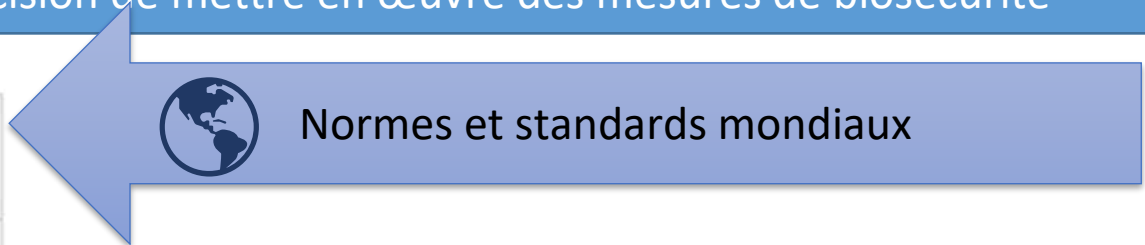
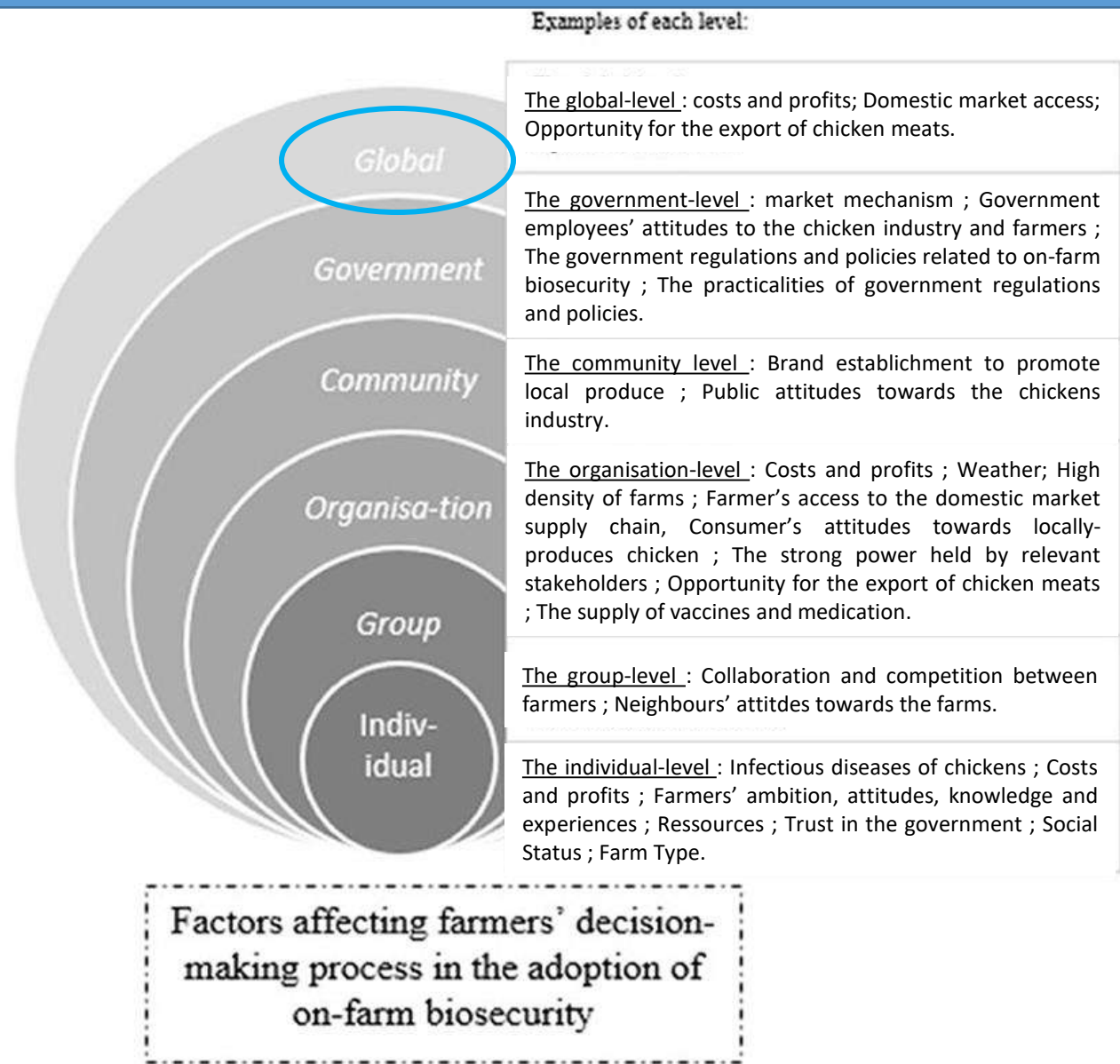
*... mais
aussi par*



Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité

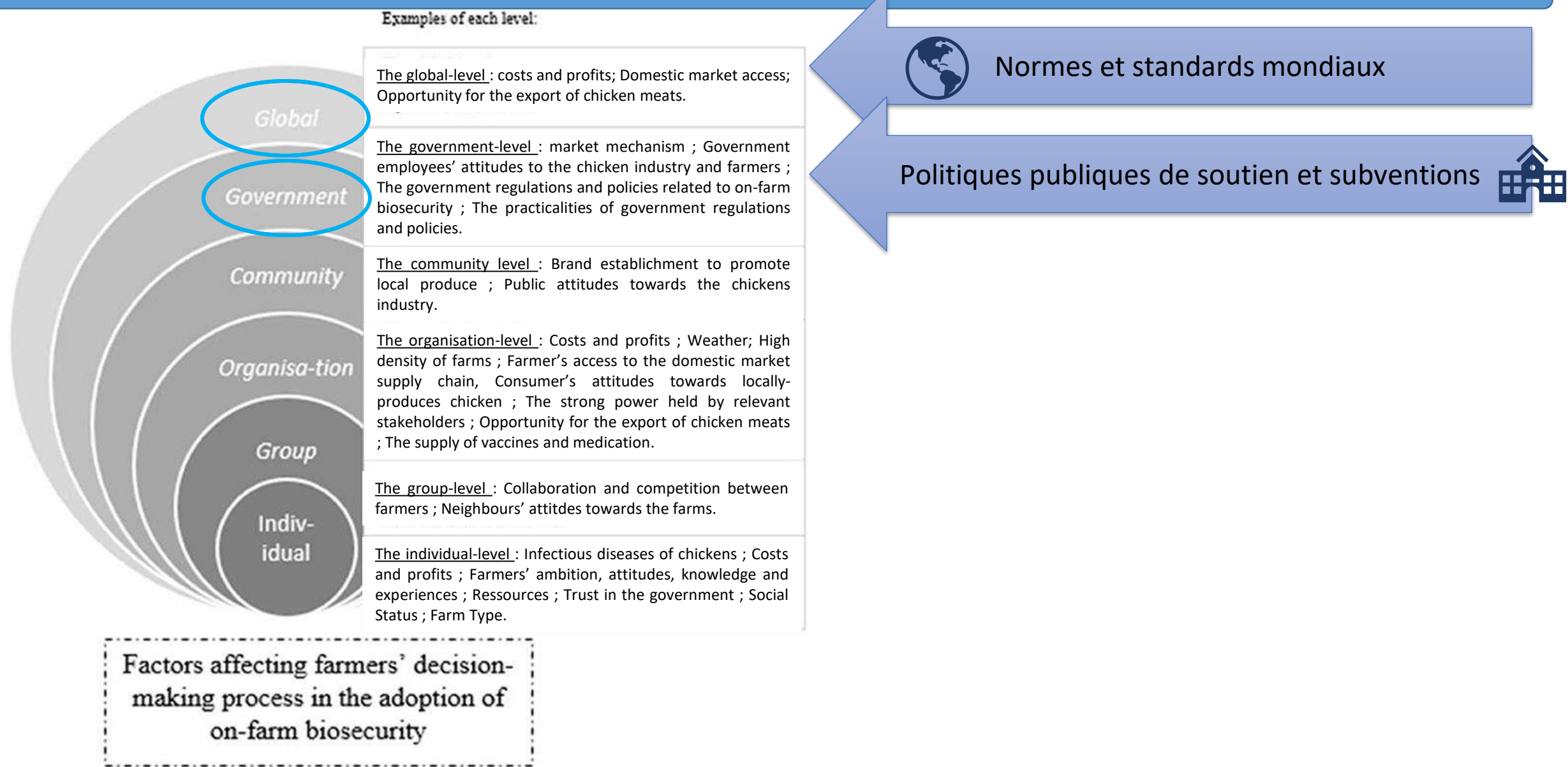


Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



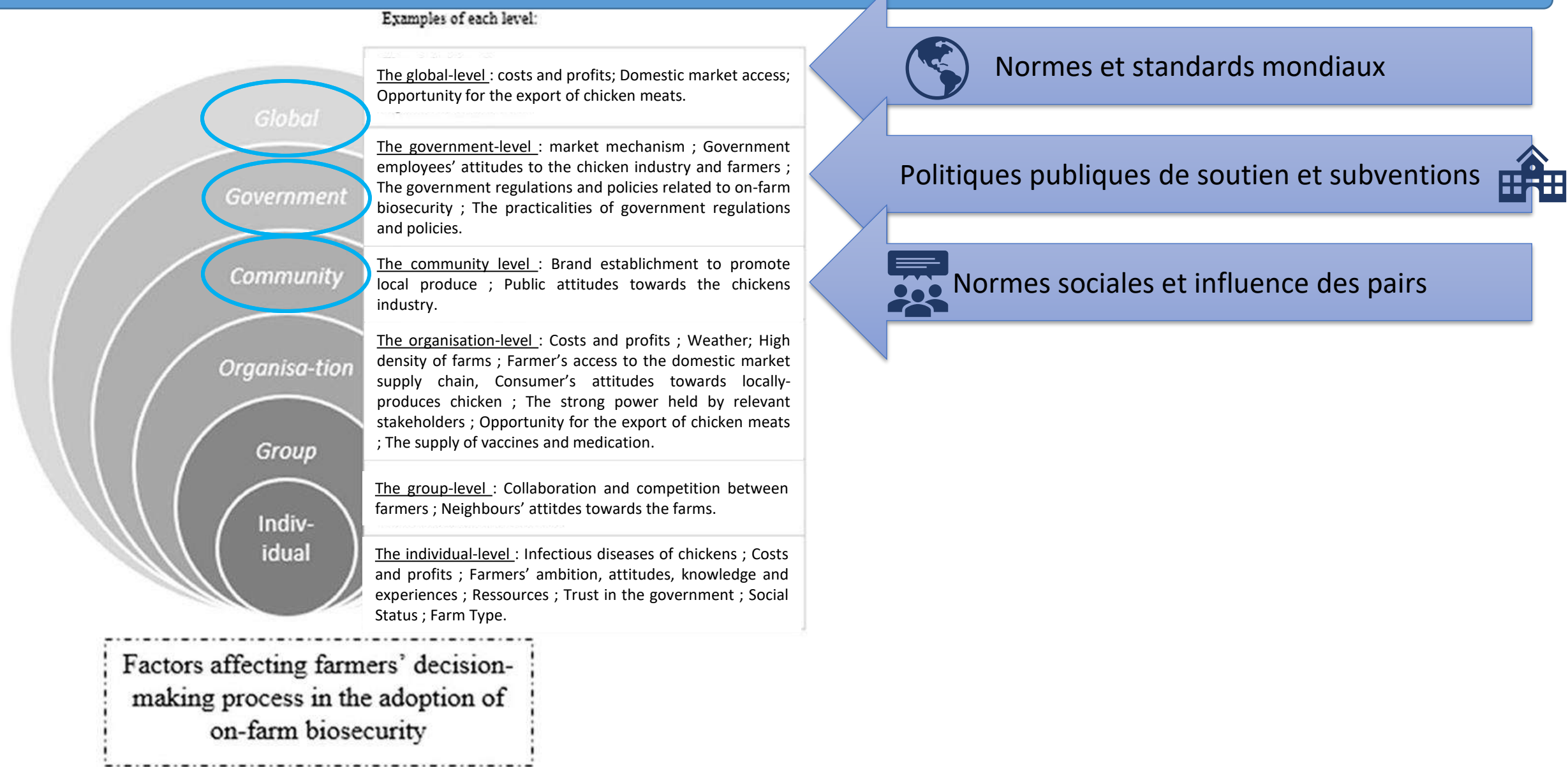
Normes et standards mondiaux

Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



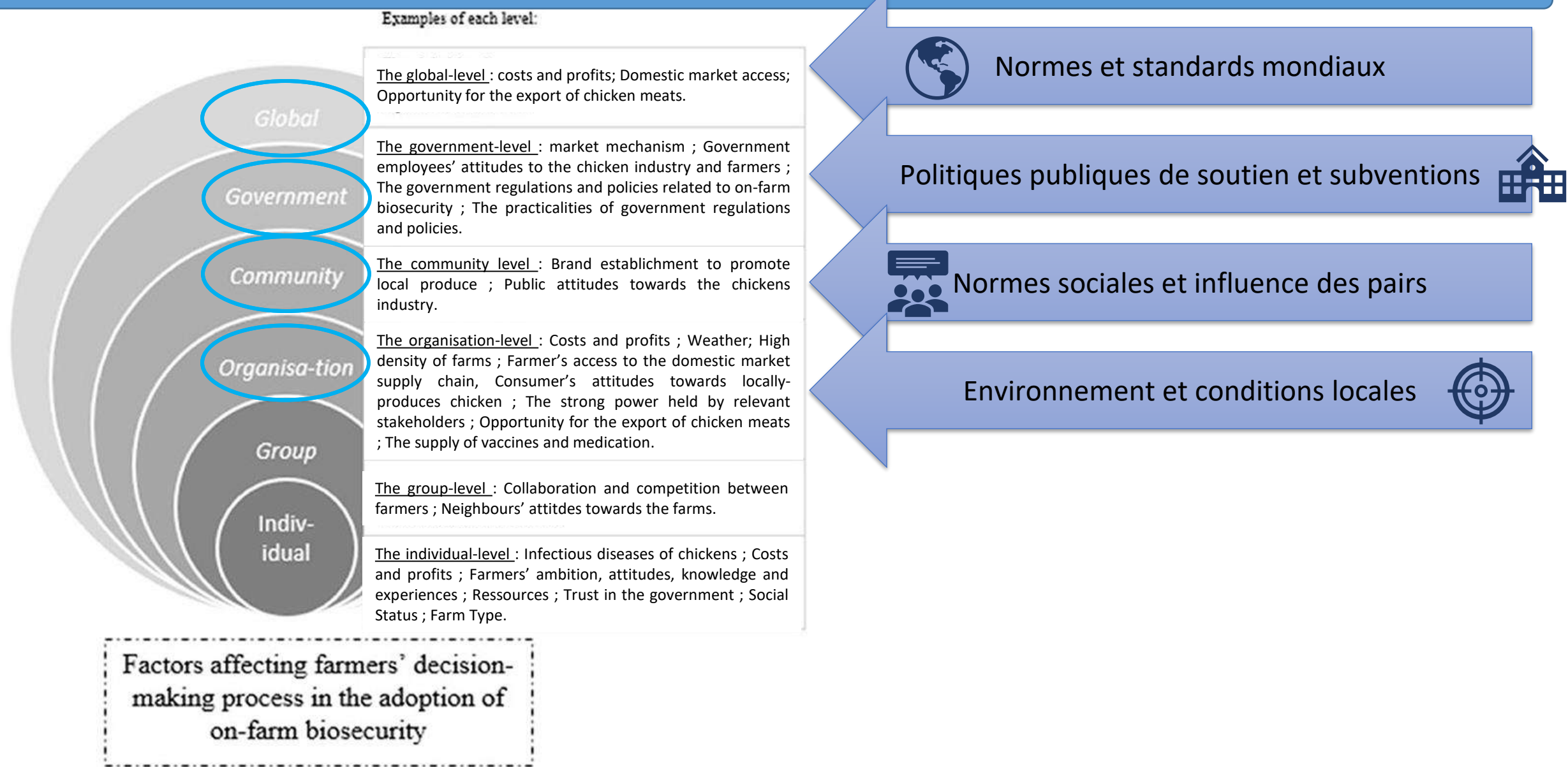
Pao H-n, Jackson E, Yang T-s, Tsai J-s, Sung WHT and Pfeiffer DU (2022) Determinants of farmers' biosecurity mindset: A social-ecological model using systems thinking. Front. Vet. Sci. 9:959934. doi: 10.3389/fvets.2022.959934

Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



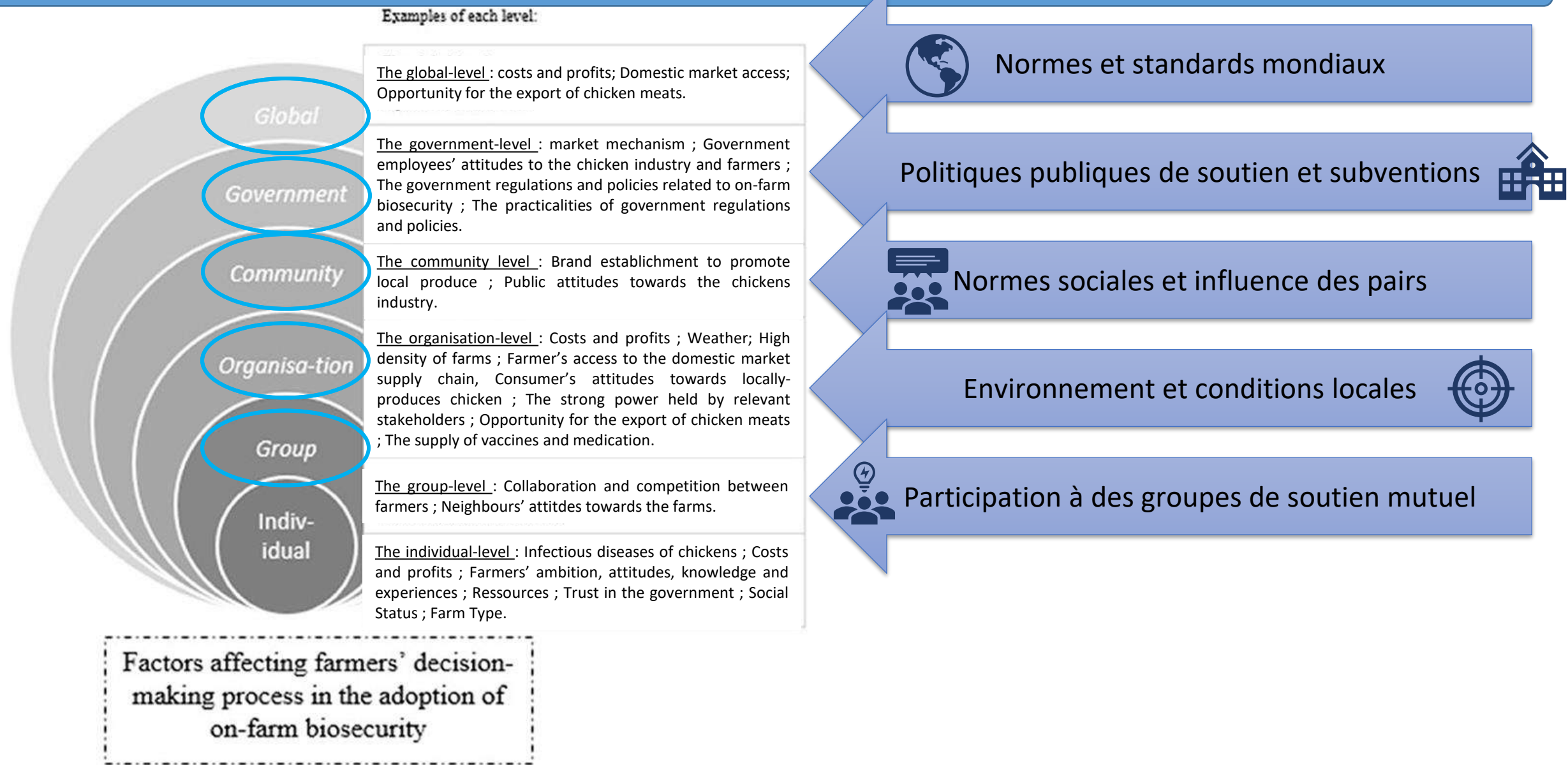
Pao H-n, Jackson E, Yang T-s, Tsai J-s, Sung WHT and Pfeiffer DU (2022) Determinants of farmers' biosecurity mindset: A social-ecological model using systems thinking. Front. Vet. Sci. 9:959934. doi: 10.3389/fvets.2022.959934

Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



Pao H-n, Jackson E, Yang T-s, Tsai J-s, Sung WHT and Pfeiffer DU (2022) Determinants of farmers' biosecurity mindset: A social-ecological model using systems thinking. Front. Vet. Sci. 9:959934. doi: 10.3389/fvets.2022.959934

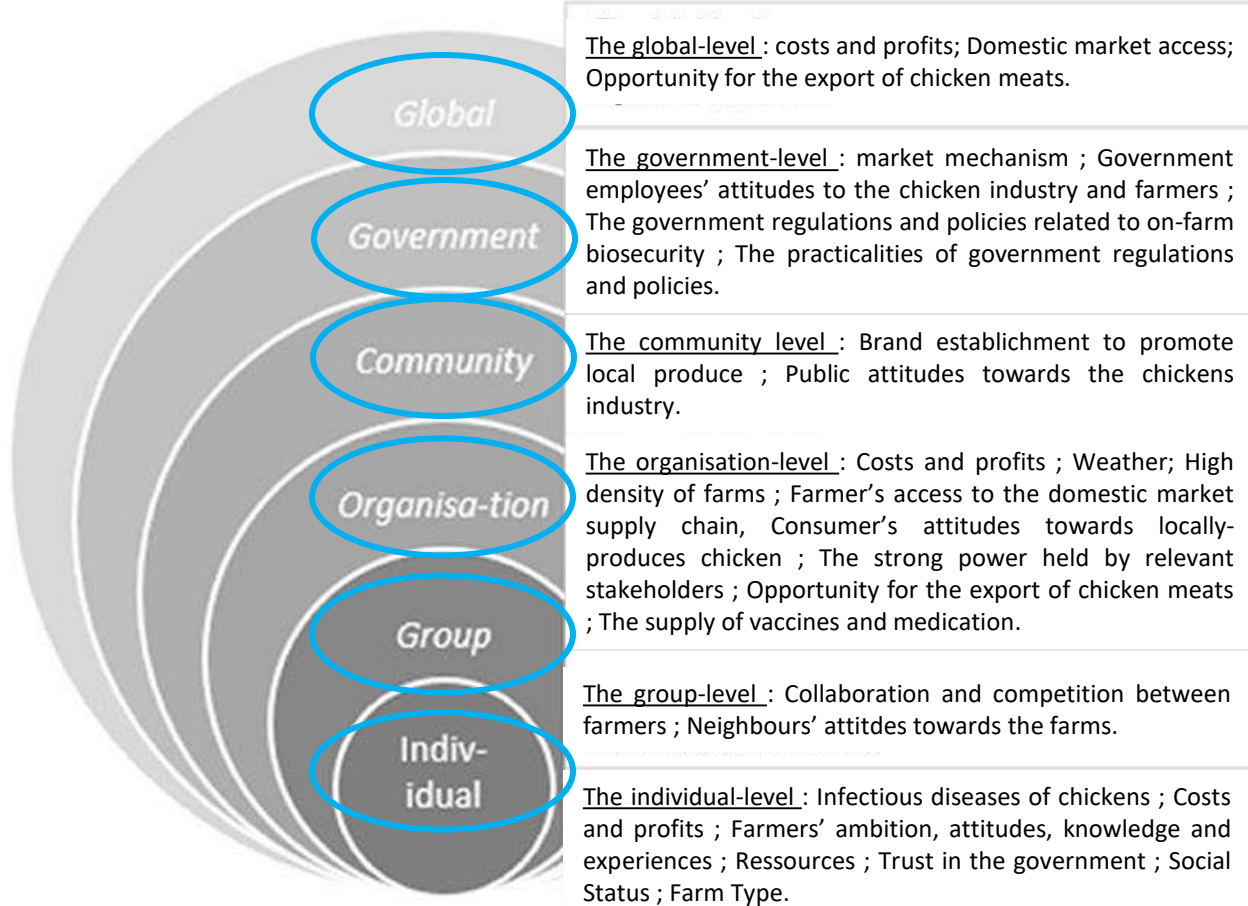
Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



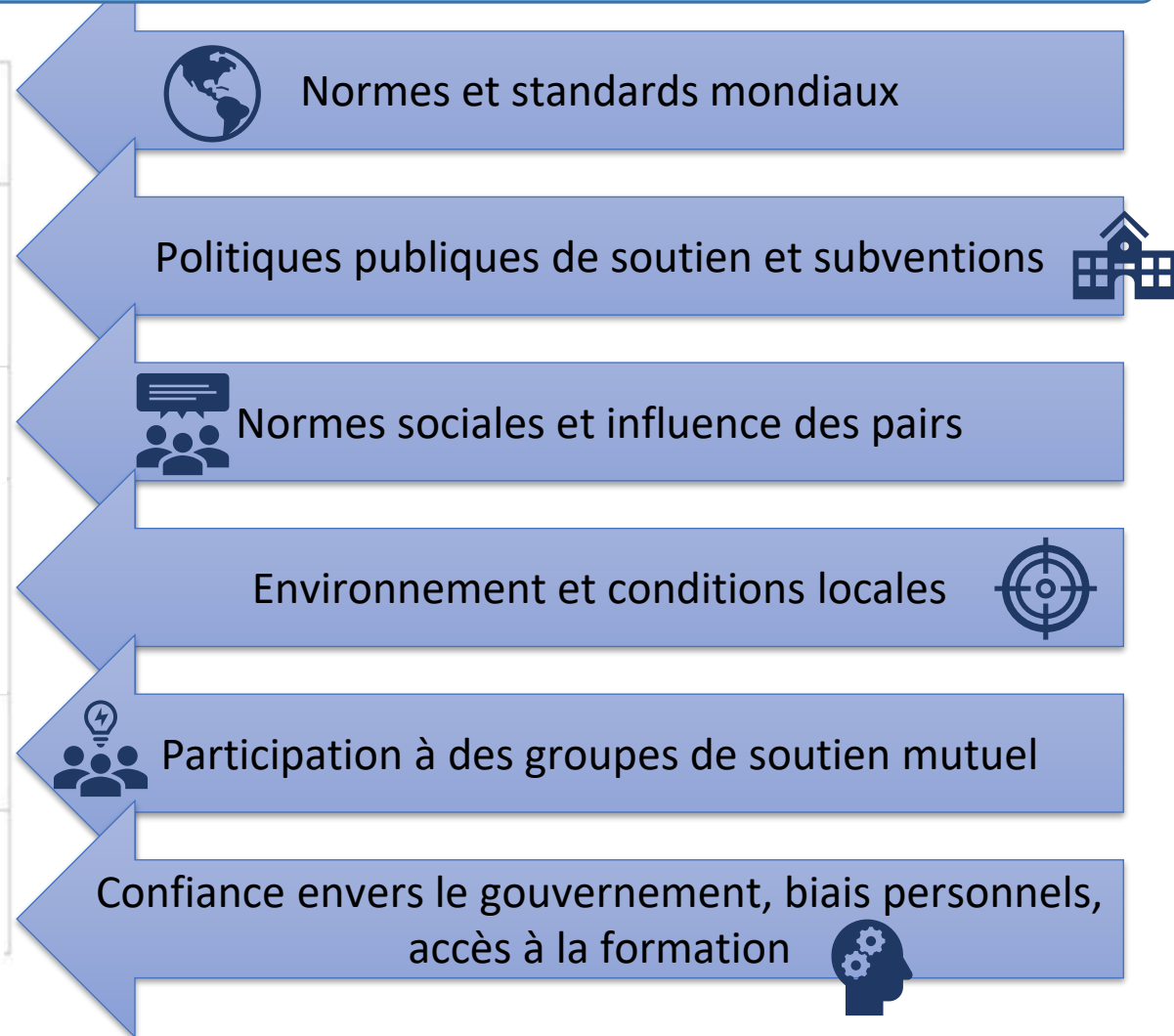
Pao H-n, Jackson E, Yang T-s, Tsai J-s, Sung WHT and Pfeiffer DU (2022) Determinants of farmers' biosecurity mindset: A social-ecological model using systems thinking. Front. Vet. Sci. 9:959934. doi: 10.3389/fvets.2022.959934

Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité

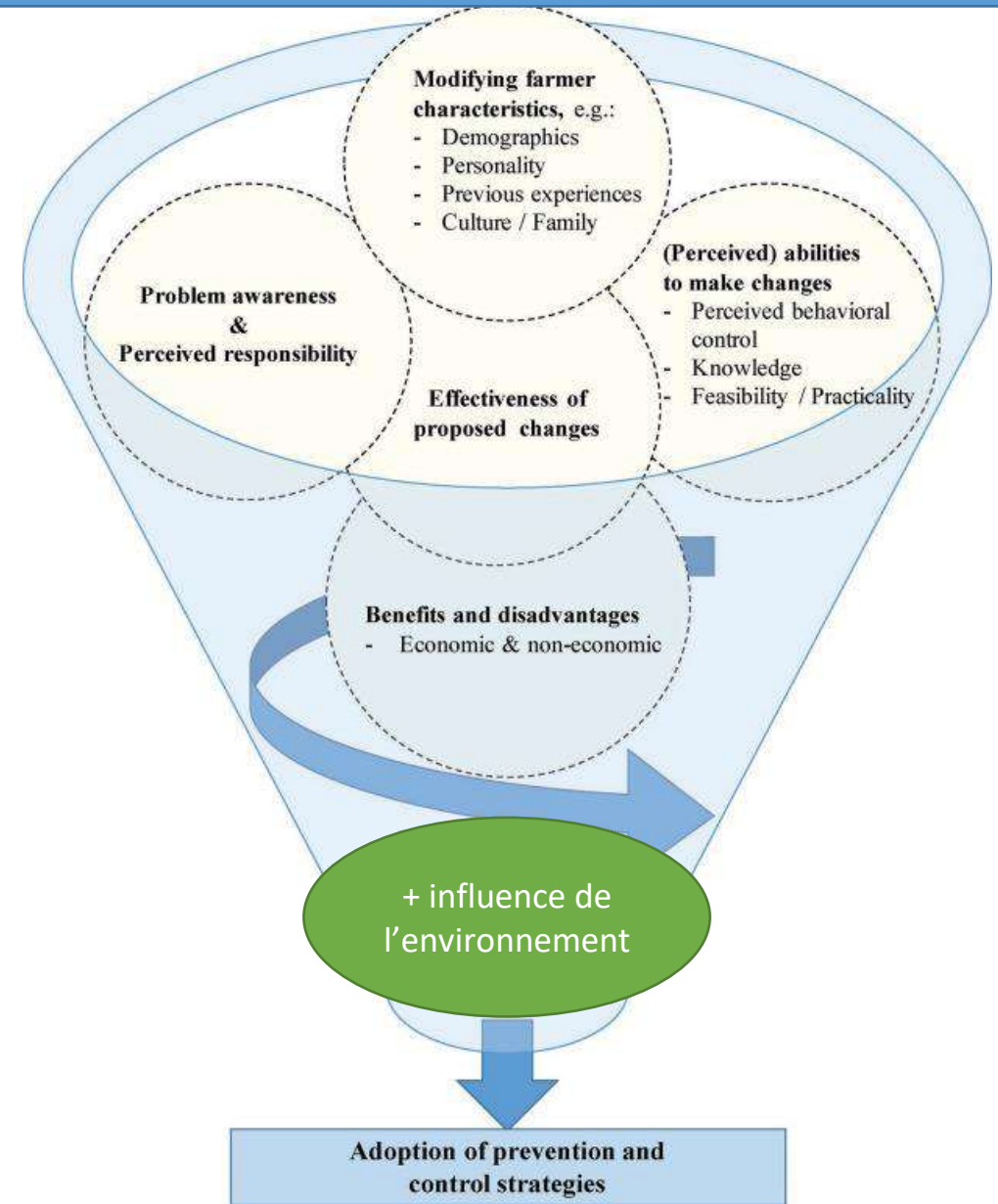
Examples of each level:



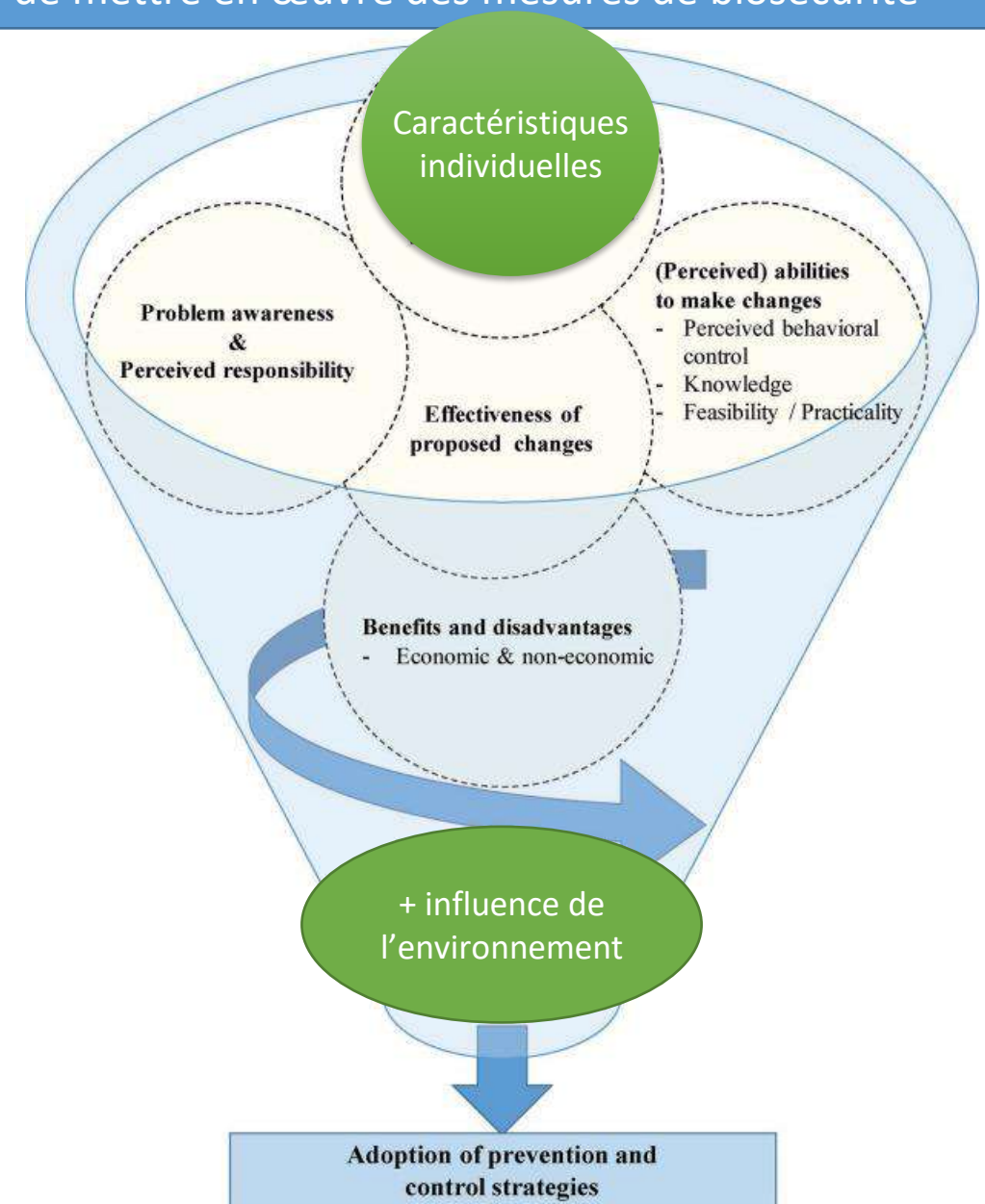
Factors affecting farmers' decision-making process in the adoption of on-farm biosecurity



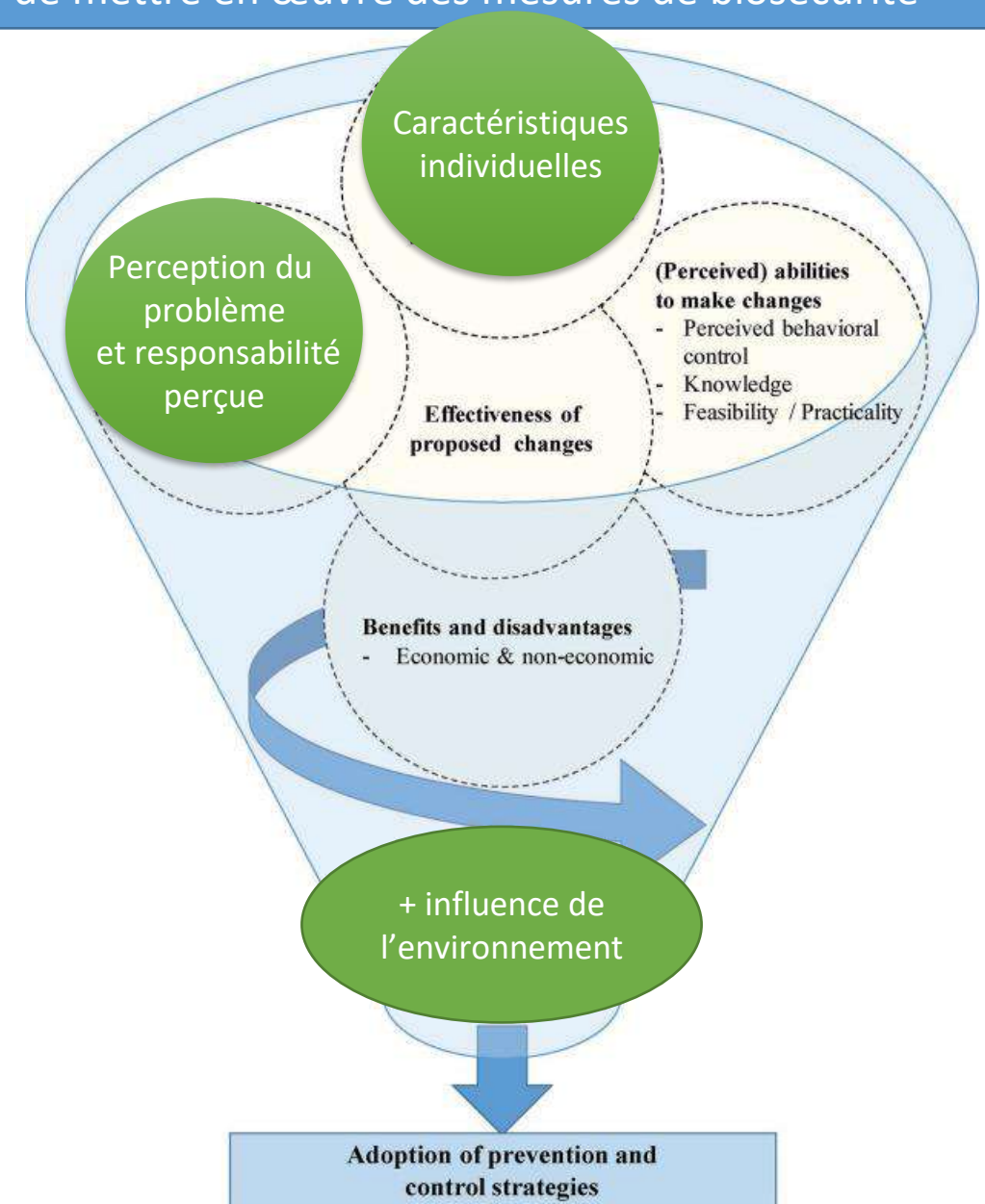
Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



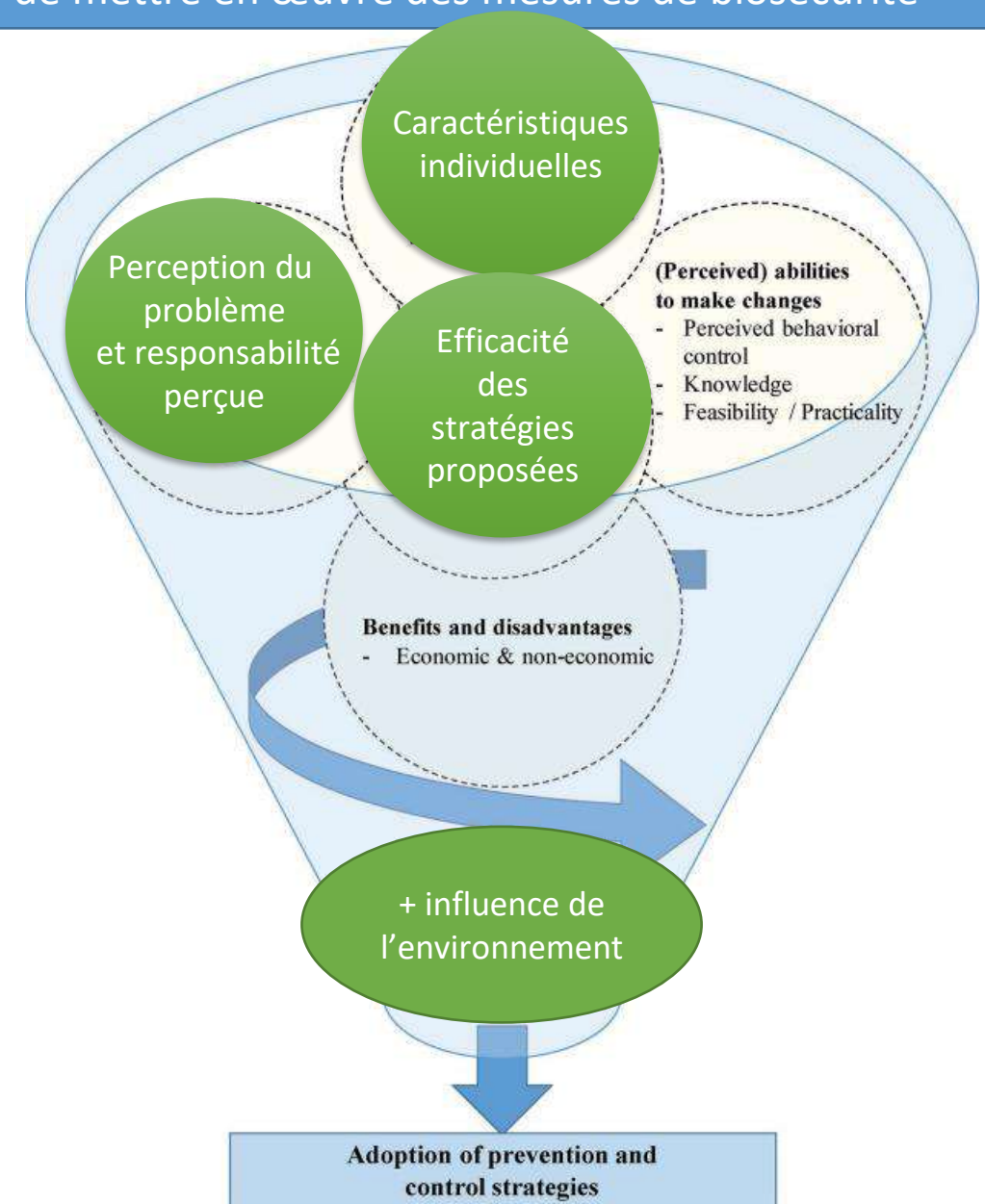
Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



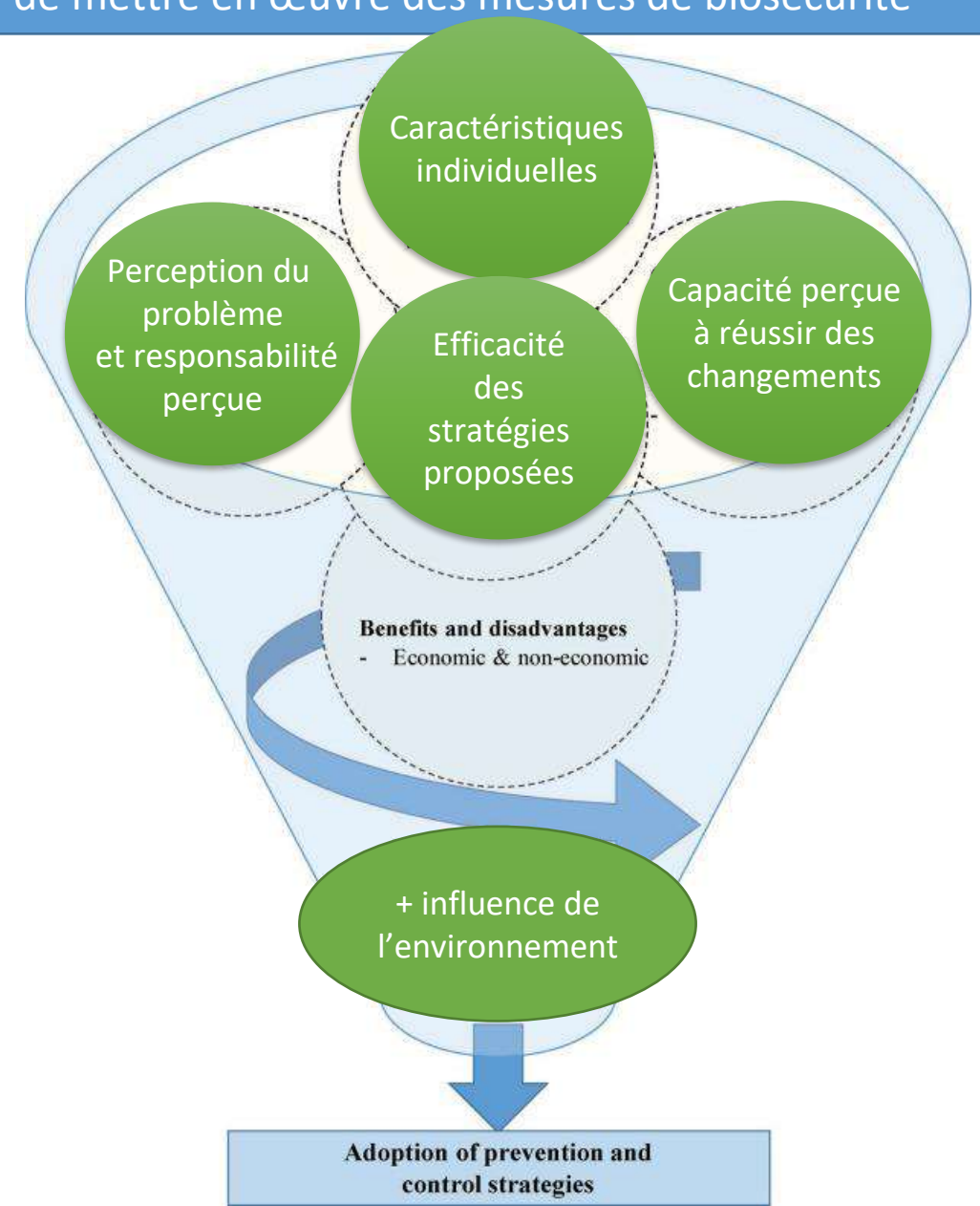
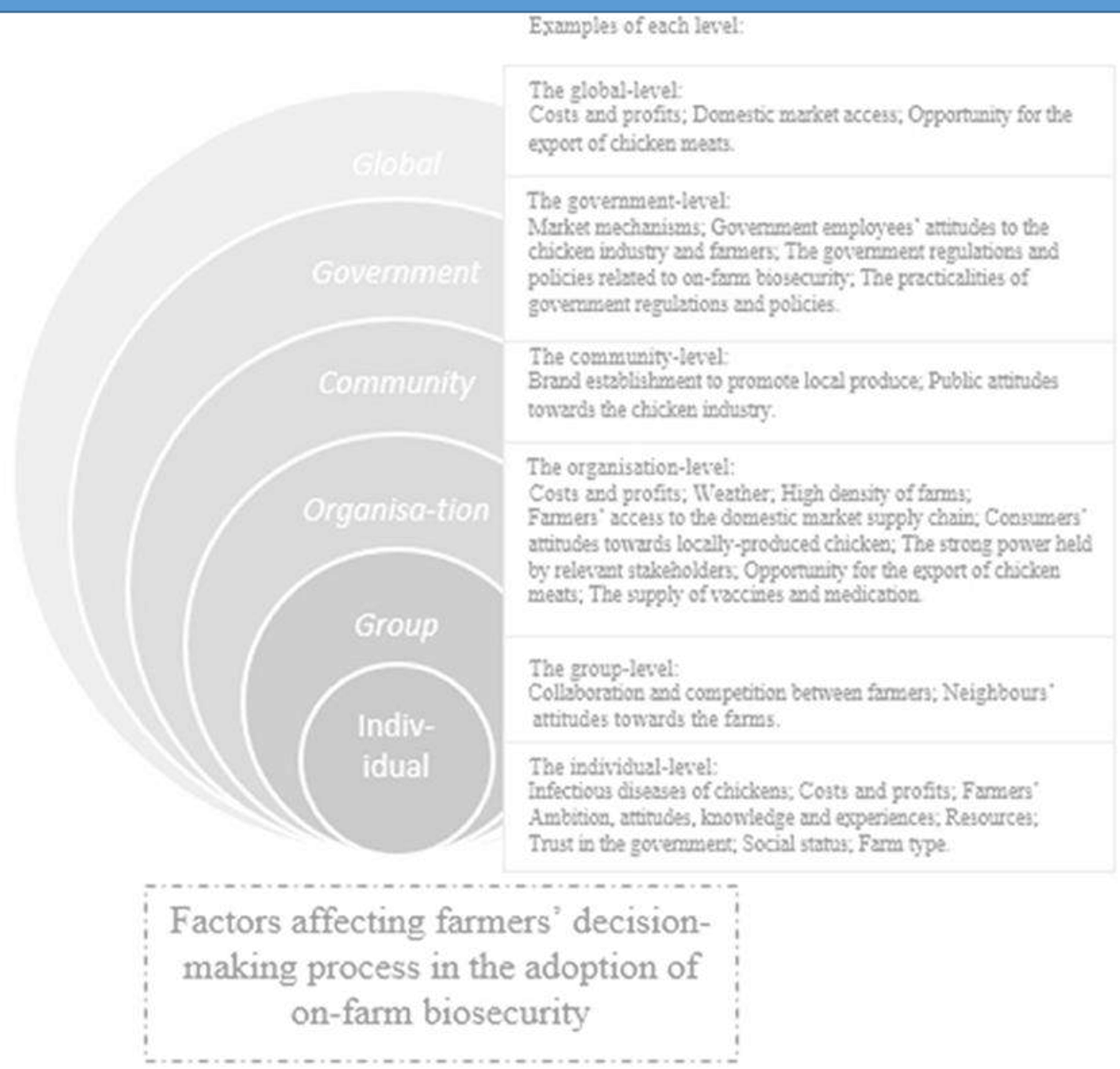
Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



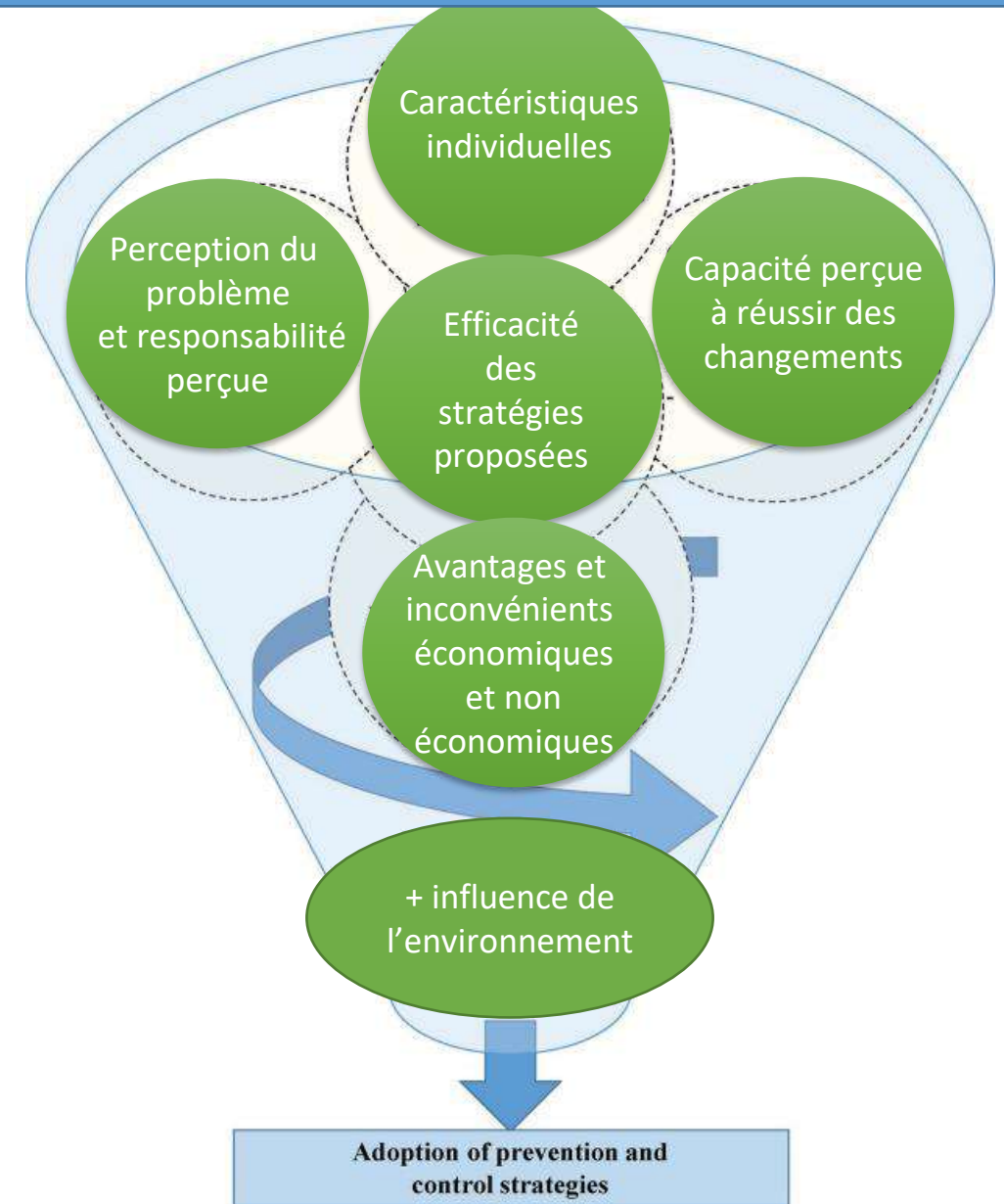
Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



Influence de l'environnement macro-socio-économique sur la décision de mettre en œuvre des mesures de biosécurité



Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

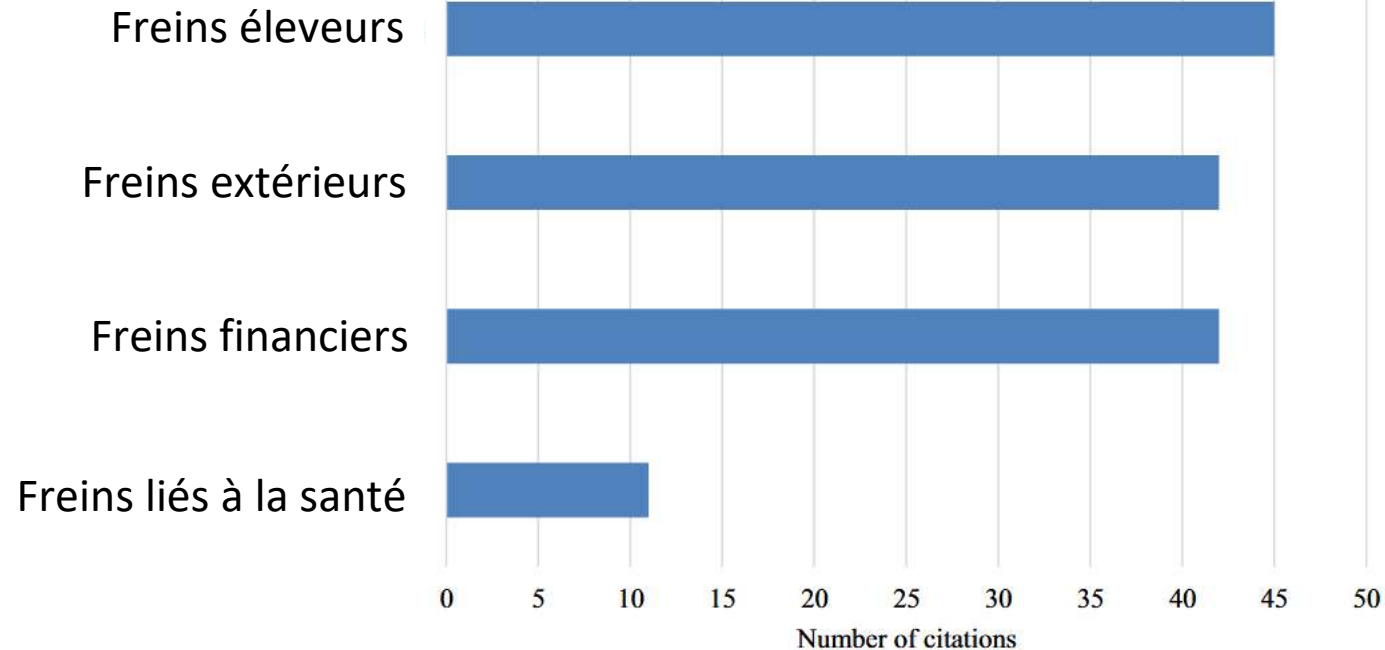


FIGURE 4

Overall number of perceived barrier key themes identified in included studies ($n=47$). Multiple themes could be identified in one study.

Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

Perception du risque de maladie, manque de sensibilisation ou de connaissances, faisabilité, efficacité, manque de motivation, habitudes, absence de sentiment de responsabilité

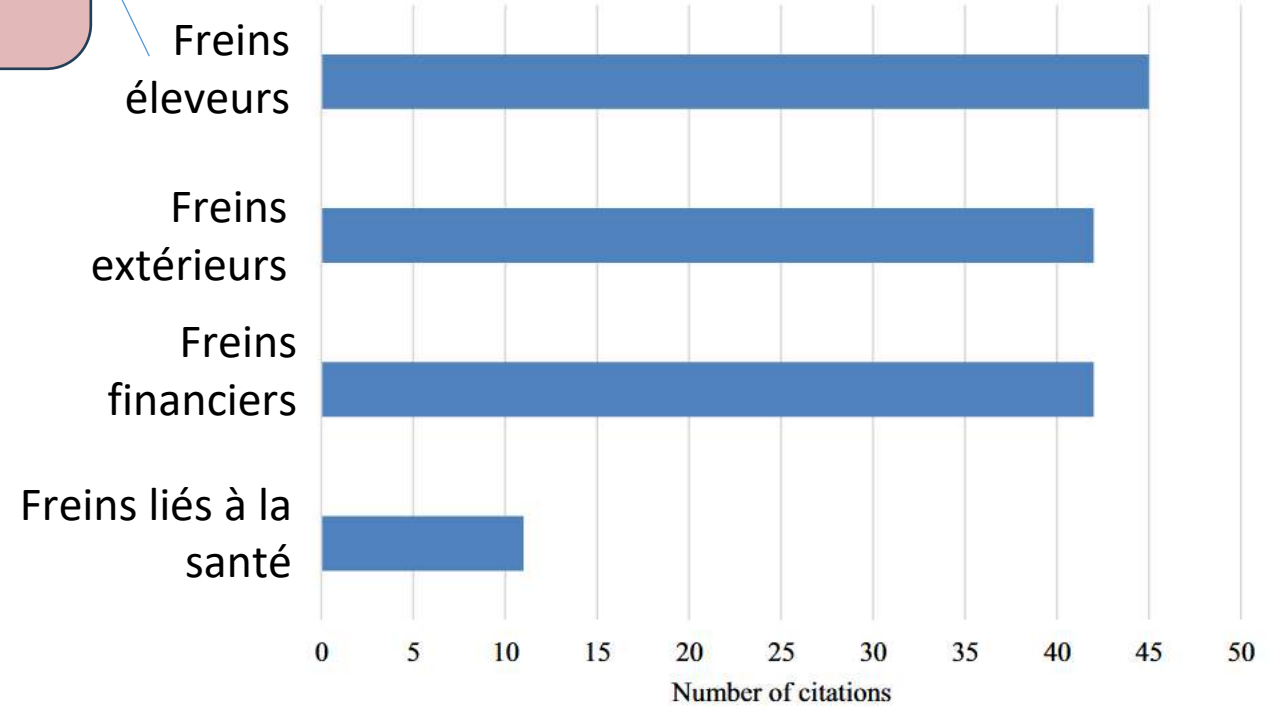


FIGURE 4
Overall number of perceived barrier key themes identified in included studies (n=47). Multiple themes could be identified in one study.

Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

Perception du risque de maladie, manque de sensibilisation ou de connaissances, faisabilité, efficacité, manque de motivation, habitudes, absence de sentiment de responsabilité



Temps, main-d'œuvre, installations non adaptées, charge de travail

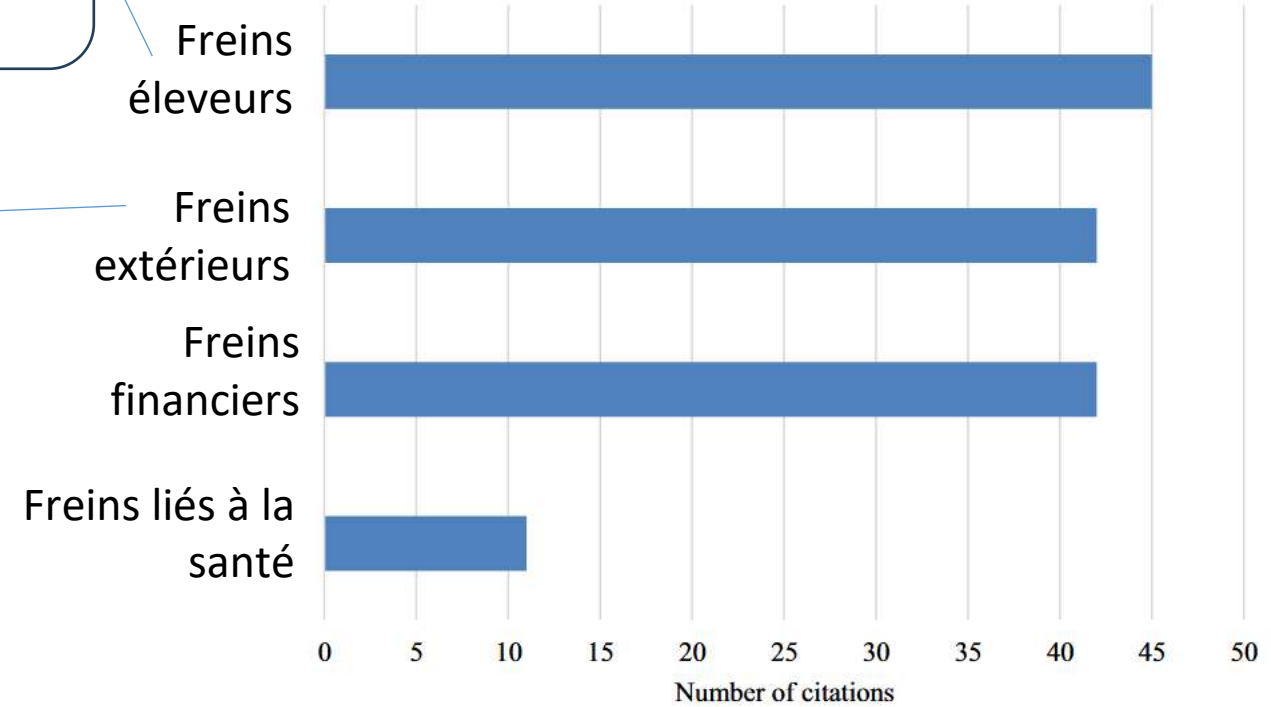


FIGURE 4
Overall number of perceived barrier key themes identified in included studies (n=47). Multiple themes could be identified in one study.

Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

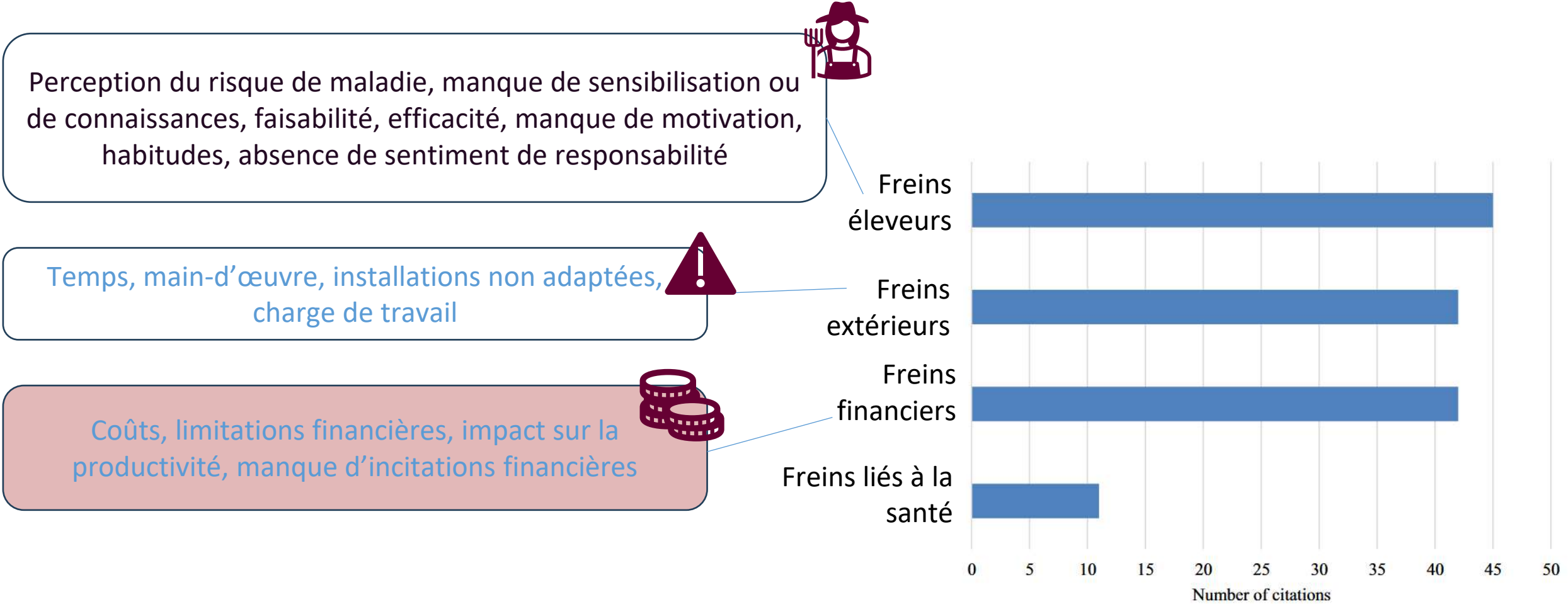
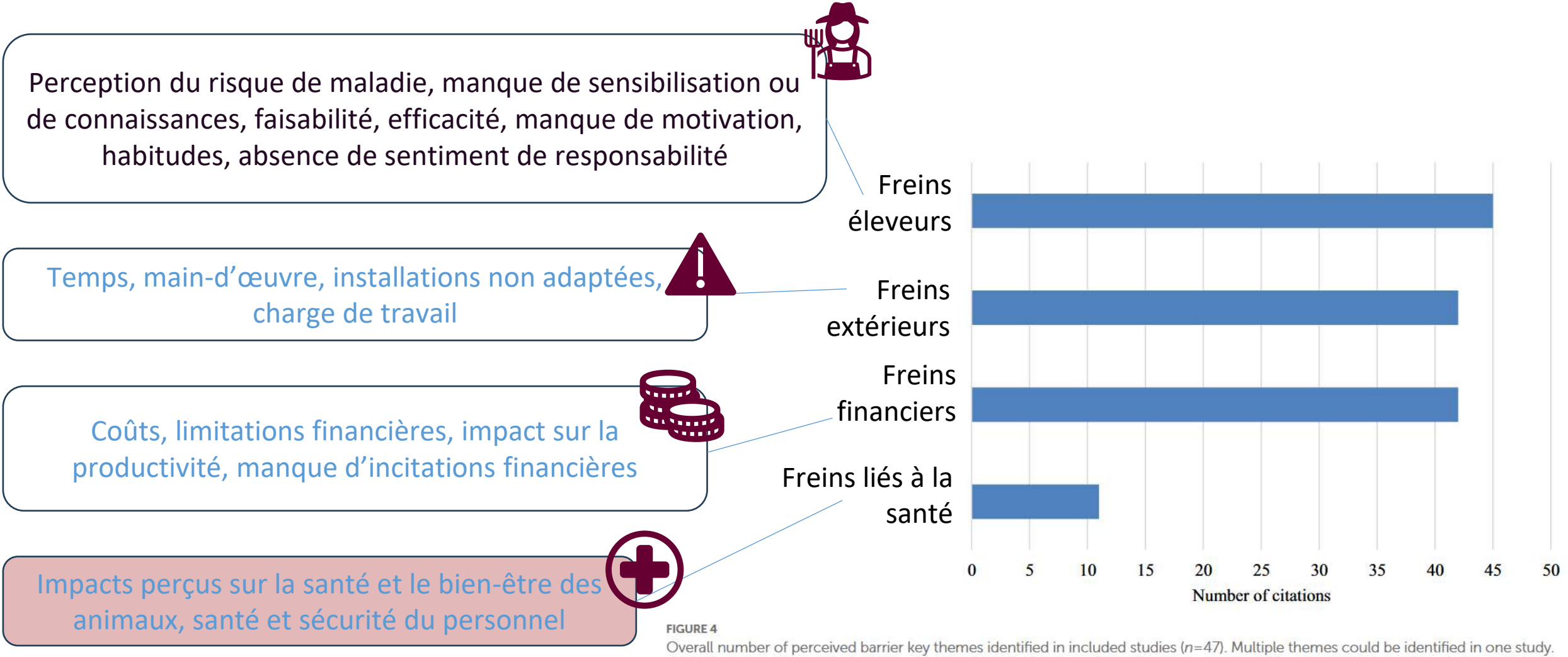


FIGURE 4
Overall number of perceived barrier key themes identified in included studies (n=47). Multiple themes could be identified in one study.

Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?



Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

Enquête sur les connaissances, pratiques et perception de la biosécurité par les éleveurs et les vétérinaires

Convaincus de l'utilité des mesures de biosécurité (6/16)



La biosécurité est inutile (3/16)



La biosécurité n'est pas une priorité car il y a déjà trop de travail (7/16)



Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

Enquête sur les connaissances, pratiques et perception de la biosécurité par les éleveurs et les vétérinaires

Convaincus de l'utilité des mesures de biosécurité (6/16)



La biosécurité est inutile (3/16)



La biosécurité n'est pas une priorité car il y a déjà trop de travail (7/16)



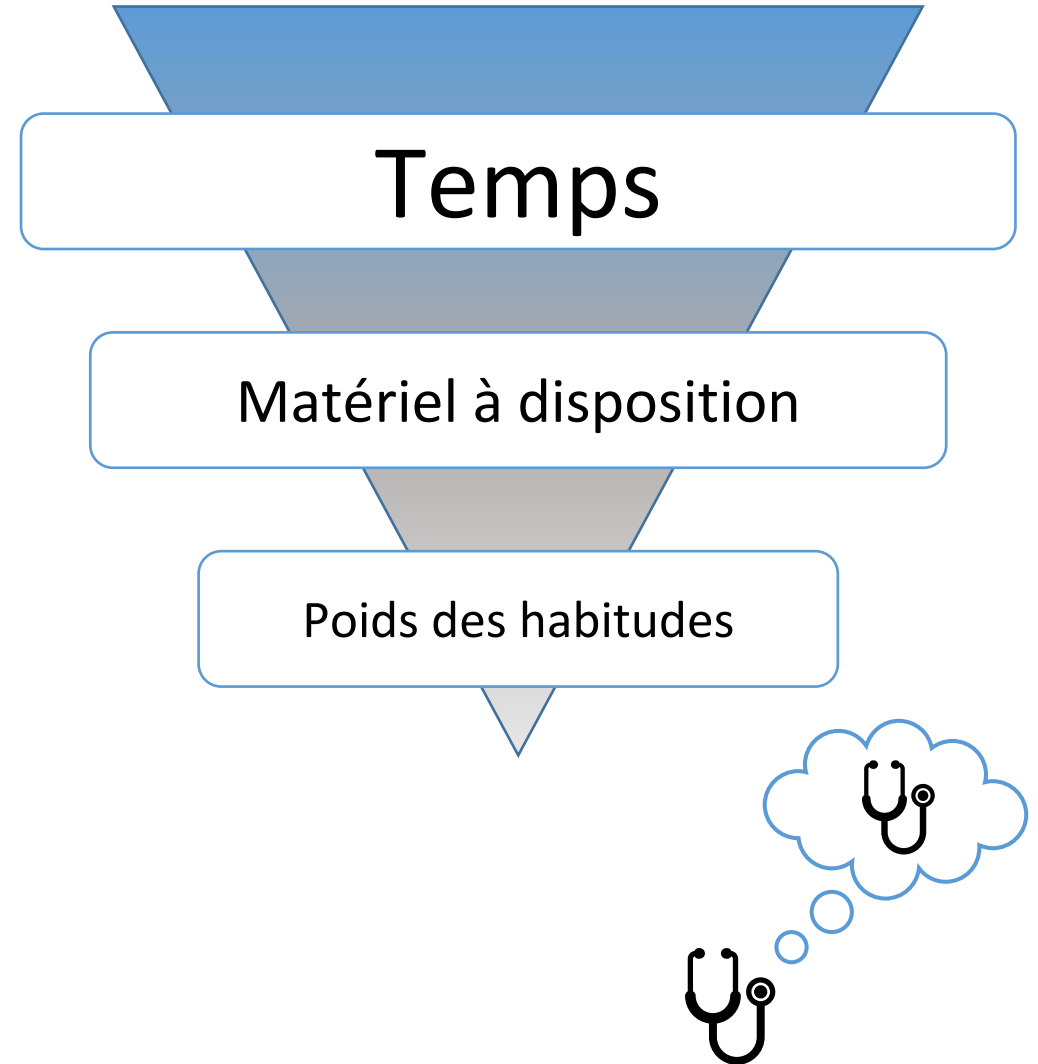
Temps et poids des habitudes

Manque de connaissances



Quels sont les FREINS à la mise en œuvre de mesures de biosécurité en élevage ?

Mots les plus cités par les **vétérinaires** interrogés sur le thème des freins à l'application de mesures de biosécurité par les **vétérinaires**



Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?

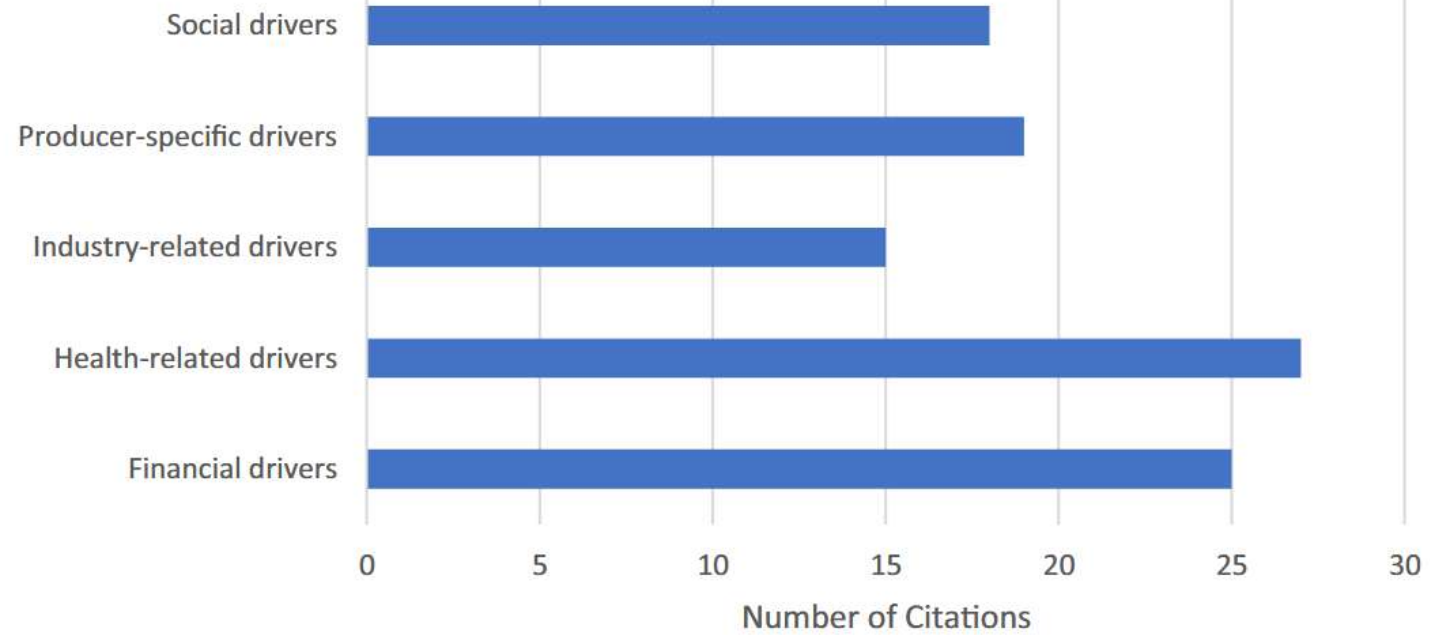
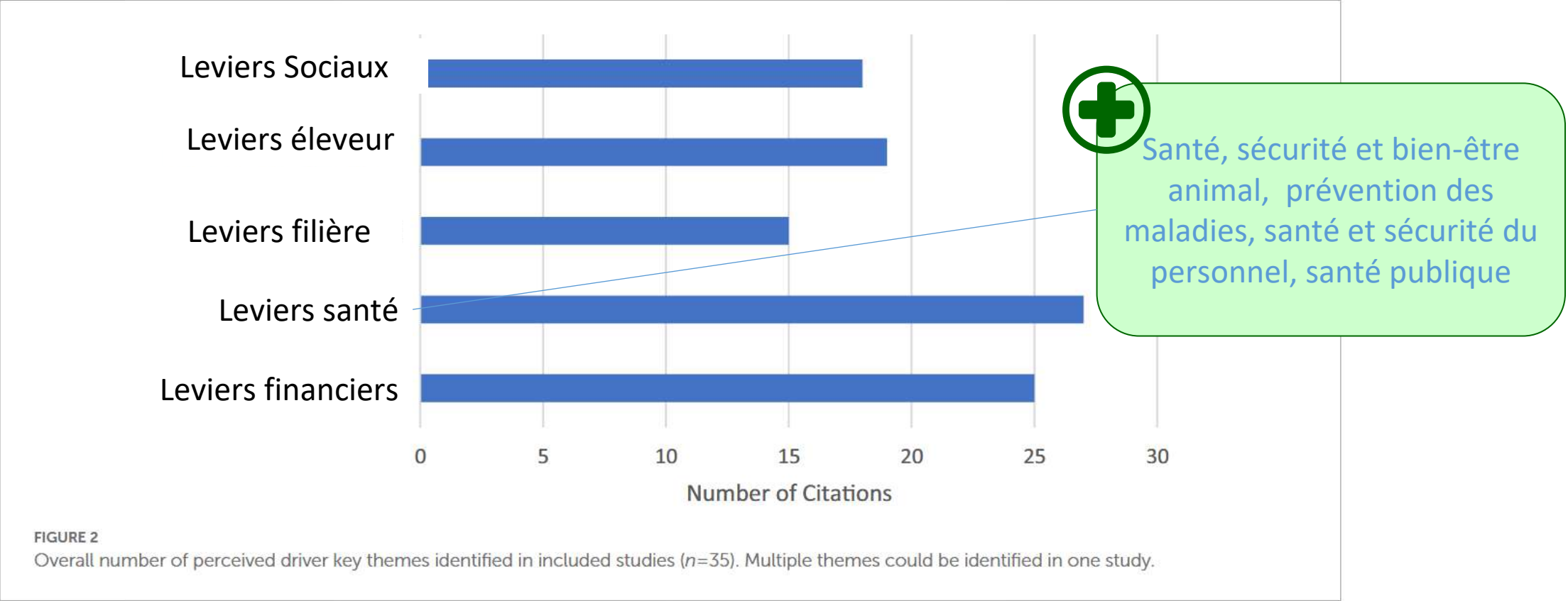


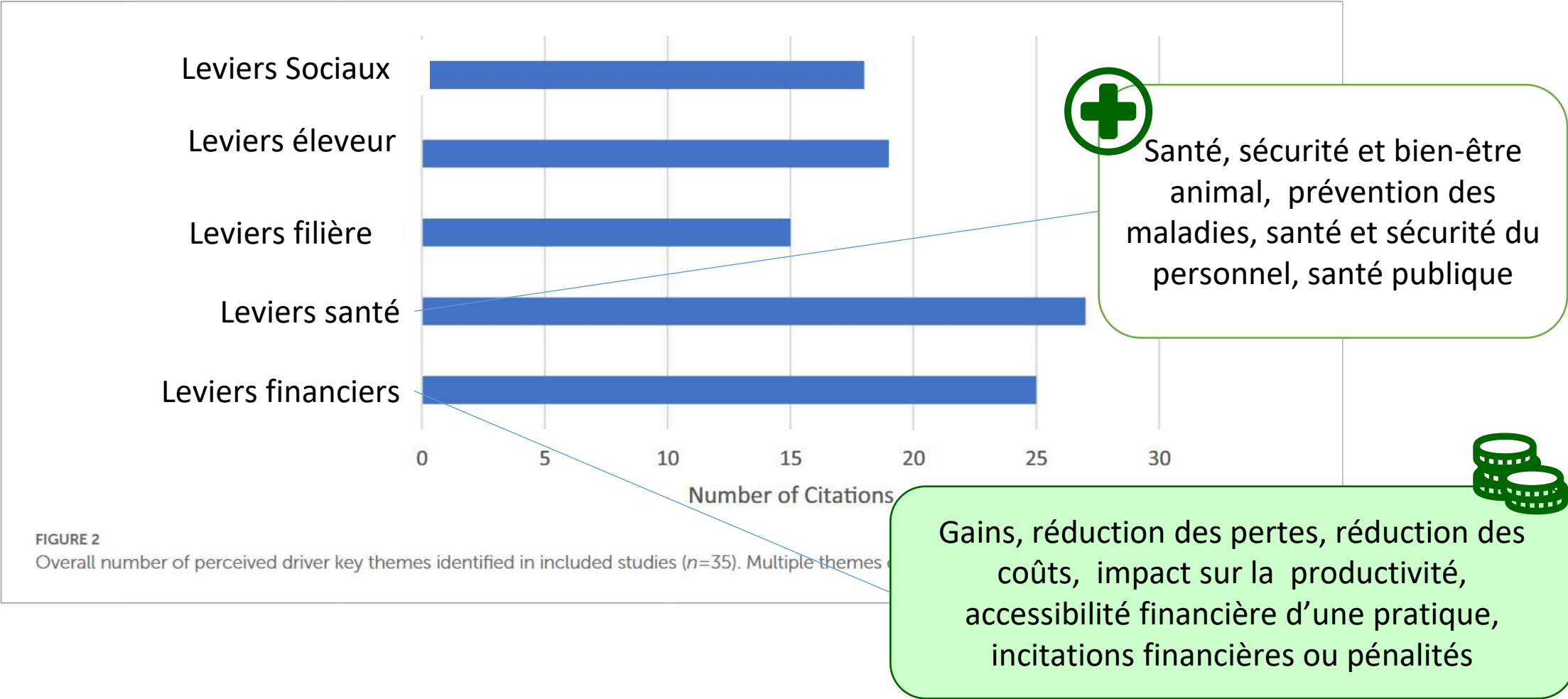
FIGURE 2

Overall number of perceived driver key themes identified in included studies ($n=35$). Multiple themes could be identified in one study.

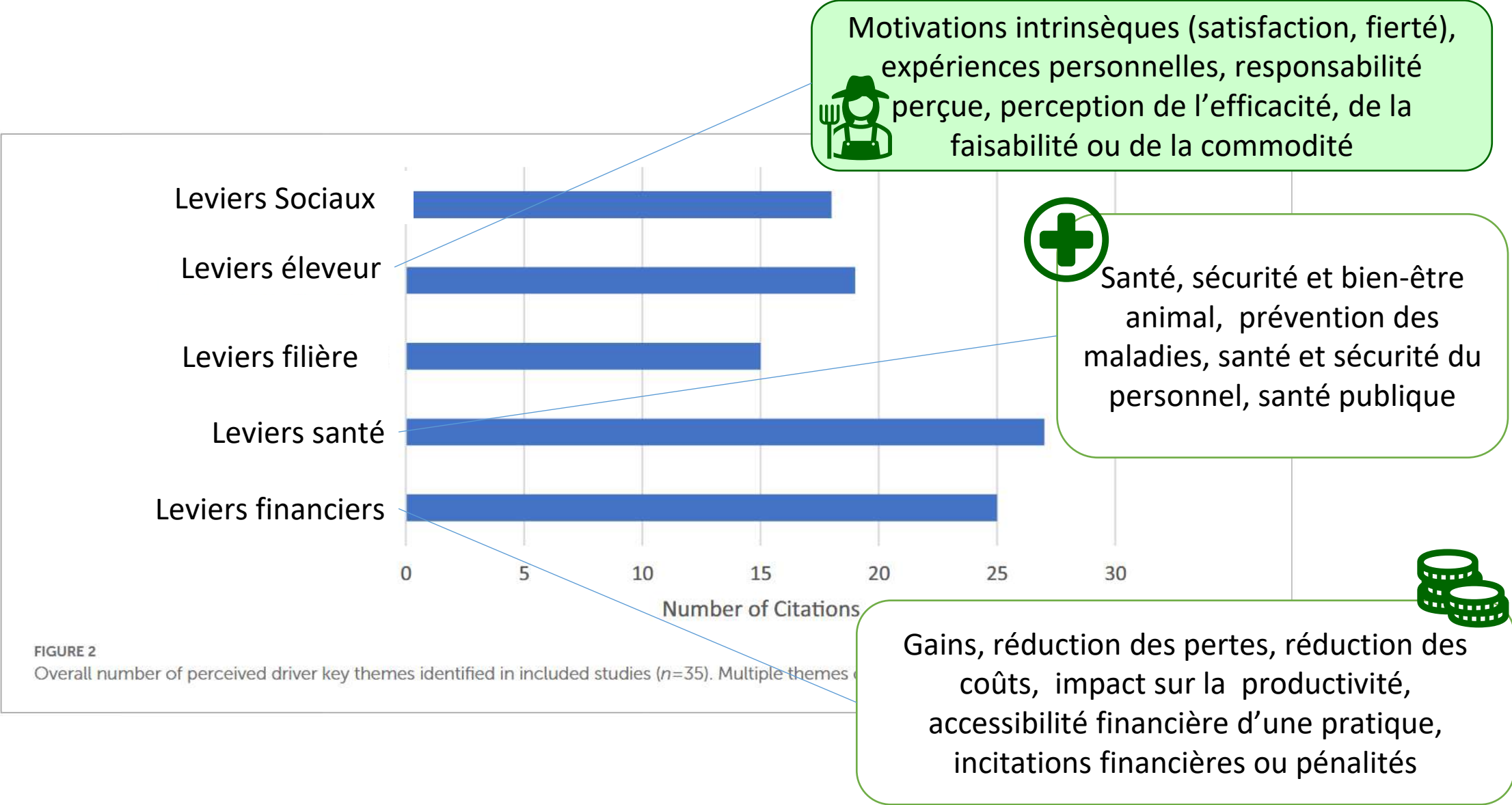
Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?



Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?



Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?



Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?

Conseils vétérinaires, injonctions du grand public et des consommateurs, influences sociales (adoption par d'autres producteurs par ex.)

Motivations intrinsèques (satisfaction, fierté), expériences personnelles, responsabilité perçue, perception de l'efficacité, de la faisabilité ou de la commodité

Leviers Sociaux

Leviers éleveur

Leviers filière

Leviers santé

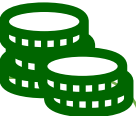
Leviers financiers

0 5 10 15 20 25 30

Number of Citations



Santé, sécurité et bien-être animal, prévention des maladies, santé et sécurité du personnel, santé publique



Gains, réduction des pertes, réduction des coûts, impact sur la productivité, accessibilité financière d'une pratique, incitations financières ou pénalités

FIGURE 2
Overall number of perceived driver key themes identified in included studies (n=35). Multiple themes

Quels sont les LEVIERS à la mise en place de mesures de biosécurité en élevage ?

Conseils vétérinaires, injonctions du grand public et des consommateurs, influences sociales (adoption par d'autres producteurs par ex.)

Motivations intrinsèques (satisfaction, fierté), expériences personnelles, responsabilité perçue, perception de l'efficacité, de la faisabilité ou de la commodité

Leviers Sociaux

Leviers éleveur

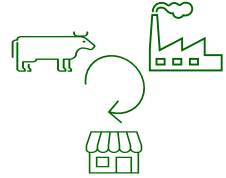
Leviers filière

Leviers santé

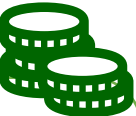
Leviers financiers



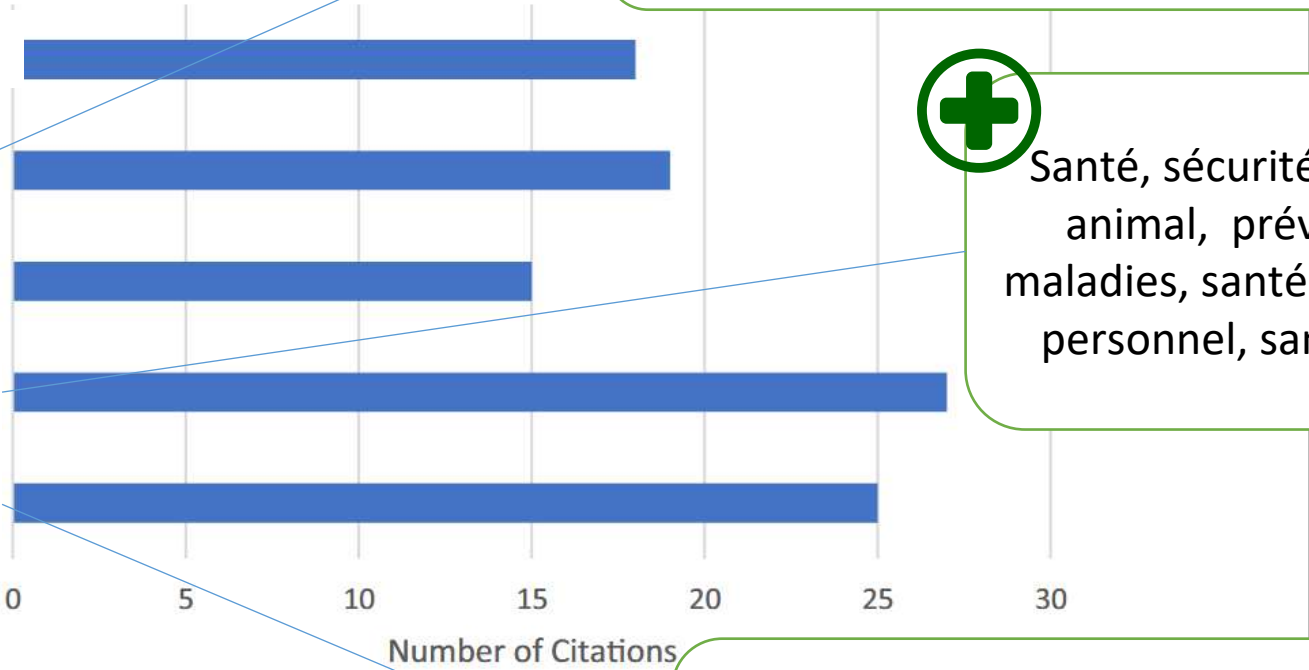
Santé, sécurité et bien-être animal, prévention des maladies, santé et sécurité du personnel, santé publique



Règlementation (gouvernementale et industrielle), accès au marché, sécurité alimentaire et qualité de production



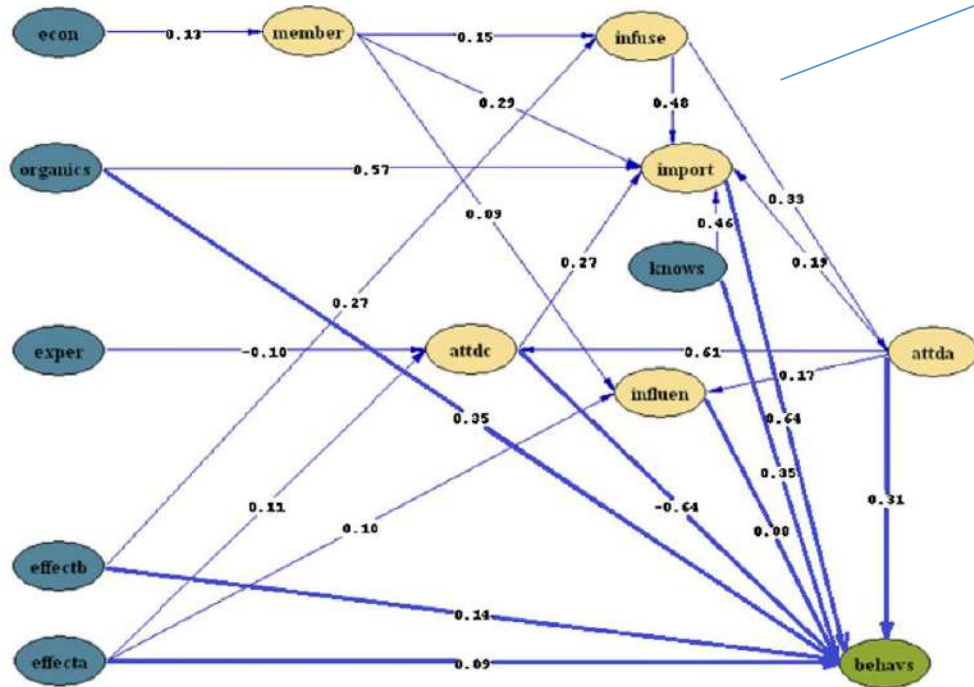
Gains, réduction des pertes, réduction des coûts, impact sur la productivité, accessibilité financière d'une pratique, incitations financières ou pénalités



Themes identified in included studies (n=35). Multiple themes

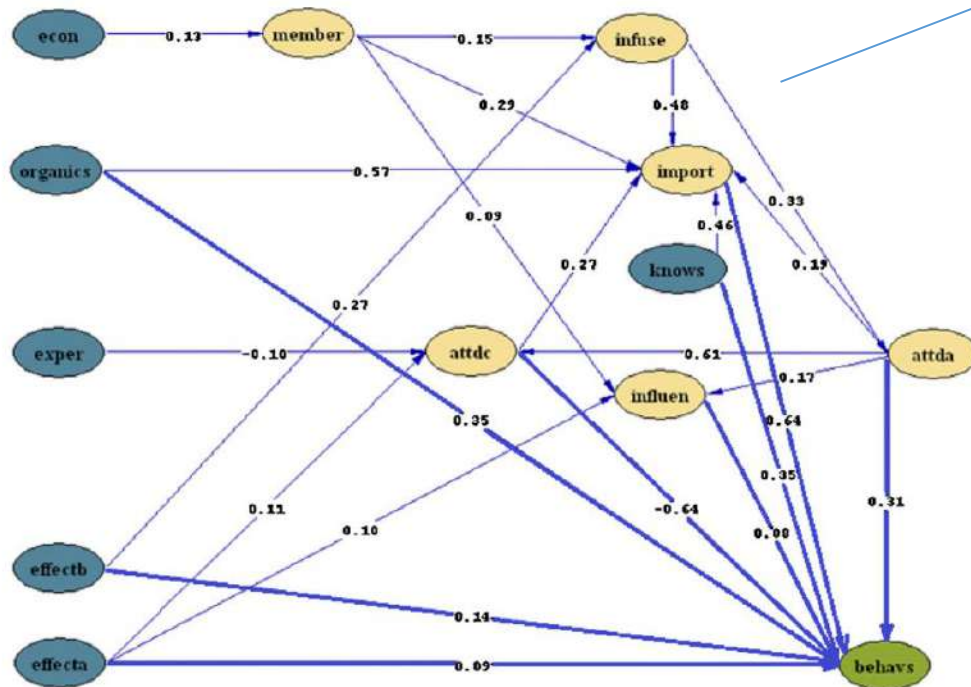
Modélisation du comportement en matière d'adoption de mesures de biosécurité

Quantification de la part des différents facteurs entrant en jeu dans la prise de décision d'appliquer des mesures de biosécurité

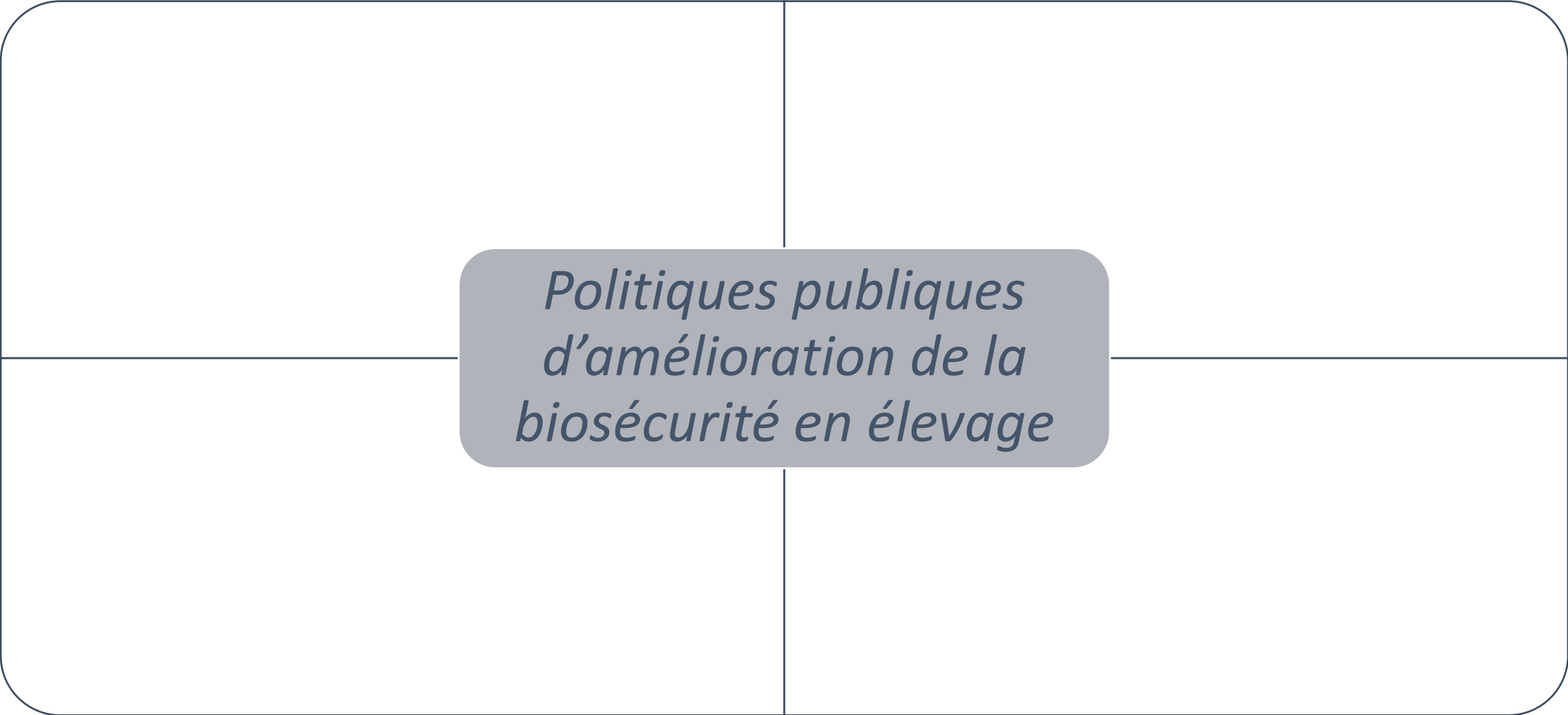


Toma, Luiza, Alistair W. Stott, Claire Heffernan, Siân Ringrose, et George J. Gunn. 2013. « Determinants of Biosecurity Behaviour of British Cattle and Sheep Farmers—A Behavioural Economics Analysis ». *Preventive Veterinary Medicine* 108 (4): 321-33. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.11.009>.

Quantification de la part des différents facteurs entrant en jeu dans la prise de décision d'appliquer des mesures de biosécurité

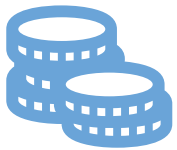


Grande influence de l'accès à l'information et au conseil en biosécurité



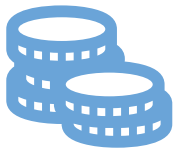
*Politiques publiques
d'amélioration de la
biosécurité en élevage*

Conditions financières favorables



*Politiques publiques
d'amélioration de la
biosécurité en élevage*

Conditions financières favorables

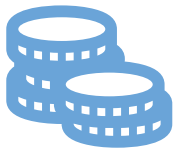


Accès aux connaissances



*Politiques publiques
d'amélioration de la
biosécurité en élevage*

Conditions financières favorables



Accès aux connaissances

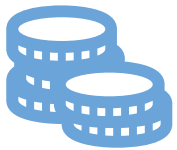


*Politiques publiques
d'amélioration de la
biosécurité en élevage*



Recommandations
personnalisées, adaptées aux
besoins, réalistes, réalisables, en
lien avec leur contexte spécifique

Conditions financières favorables



Accès aux connaissances



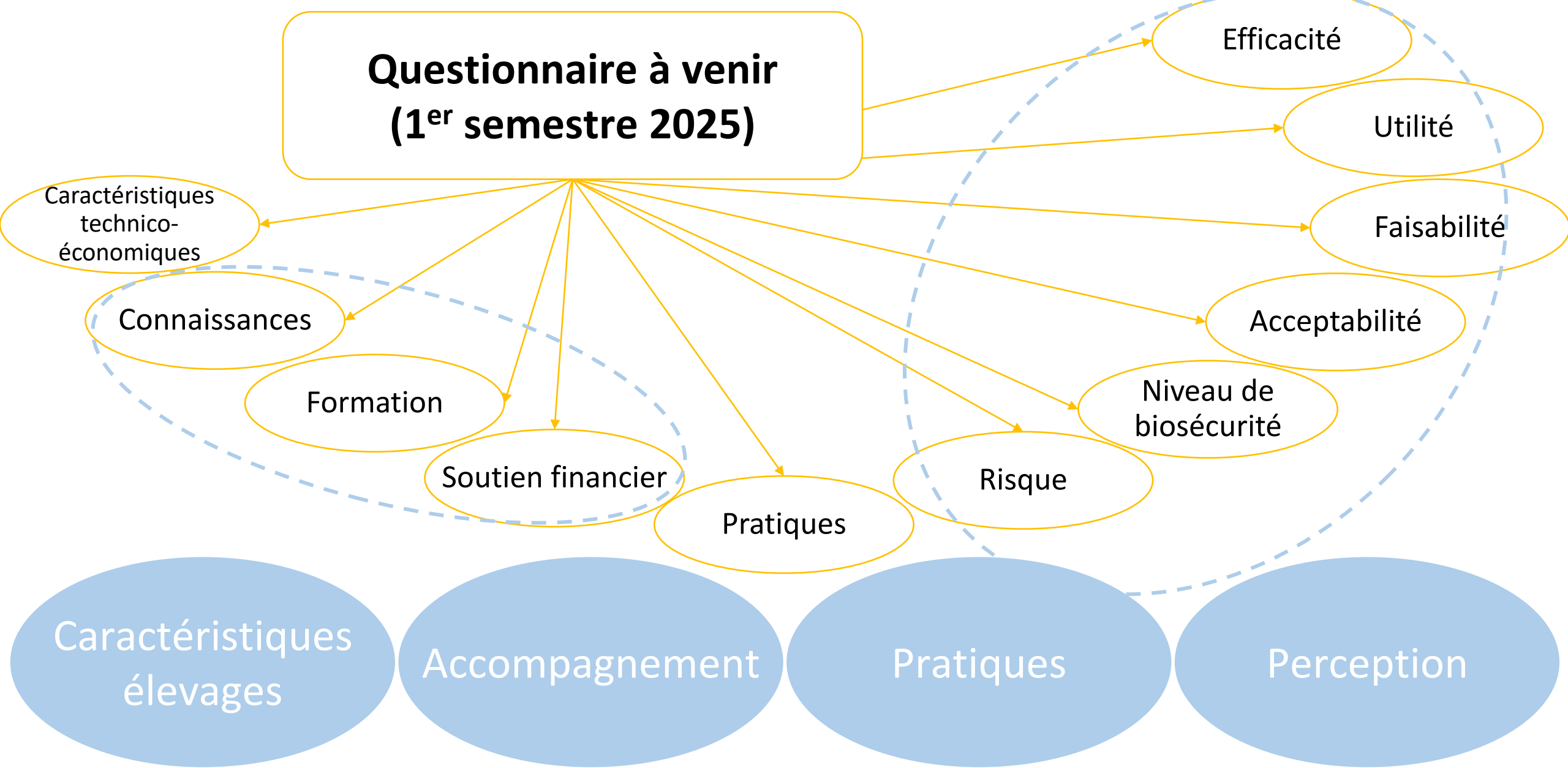
*Politiques publiques
d'amélioration de la
biosécurité en élevage*



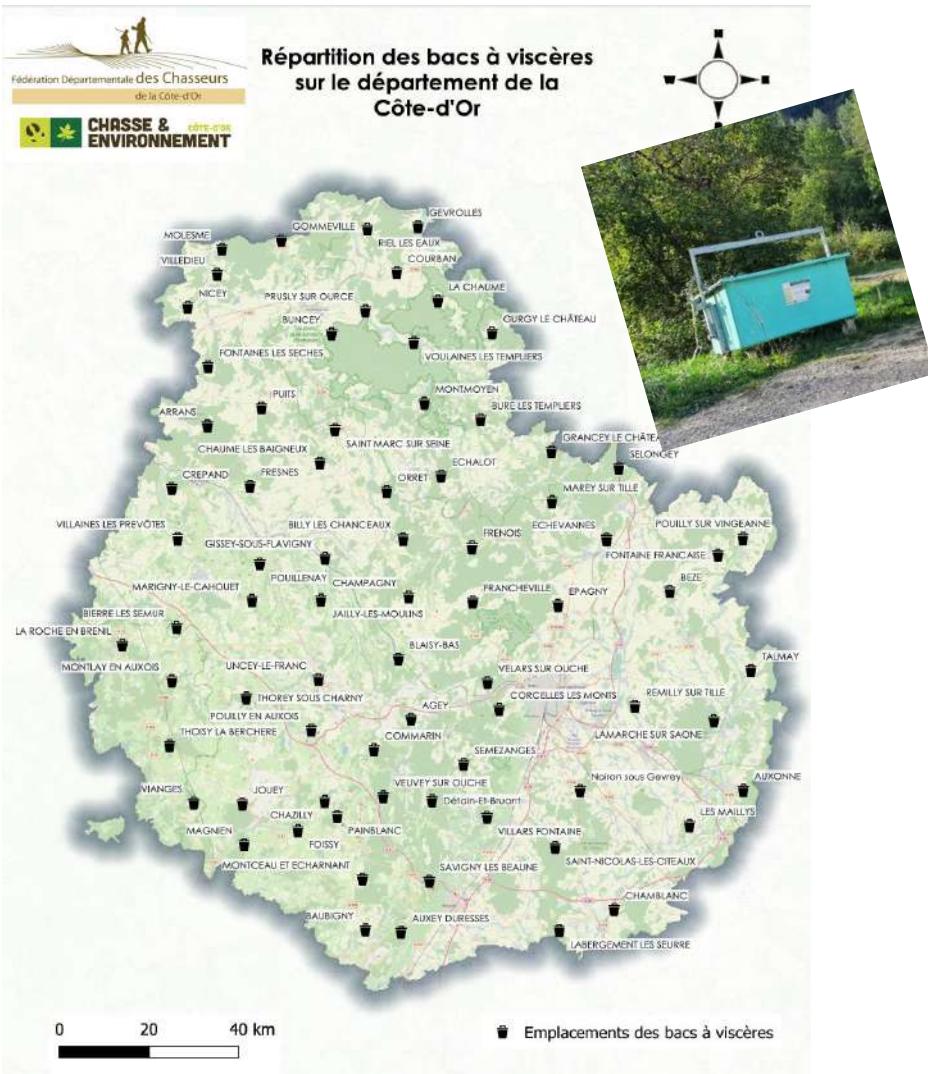
Recommandations
personnalisées, adaptées aux
besoins, réalistes, réalisables, en
lien avec leur contexte spécifique



Exemples concrets de mises en
œuvre réussies de pratiques de
biosécurité



Implication de la FDC21 sur les mesures d'enlèvement des viscères et formation à l'examen des carcasses.



72 points d'enlèvements répartis sur l'ensemble du territoire.

"Responsables de bac" pour une bonne gestion des enlèvements et de l'entretien des bacs.

Evite la propagation des maladies en ne laissant pas les viscères dans la nature.

Implication de la FDC21 sur les mesures d'enlèvement des viscères et formation à l'examen des carcasses.

1 formation/an

Objectif : 1 personne formée par société pour garantir l'hygiène de la venaison et faire remonter des observations « douteuses »



FICHE D'ACCOMPAGNEMENT DU GRAND GIBIER
Une seule fiche par espèce, par date de chasse et par destination



CIRCUIT DES CARCASSES EN PEAU
Les carcasses doivent être soigneusement mises au froid par le 1^{er} détenteur dans un réfrigérateur ou au long de leurs mouvements.

A - DÉTENTEUR INITIAL DU GIBIER (Chasseur détenteur de la carcasse, membre ou non du Syndicat de Chasse)	B - CENTRE DE COLLECTE	C - COLLECTEUR PROFESSIONNEL (organisateur d'un circuit ou d'un centre de collecte ou du gibier)	D - DESTINATION FINALE DU GIBIER
NOM : _____ Prénoms : _____ Tel : _____ Adresse : _____	NOM (raison sociale) : _____ Adresse : _____ N° d'activité par SIRET : _____ Date de réception de la carcasse : _____ Signature : _____	NOM (raison sociale) : _____ Adresse : _____ N° d'activité par SIRET : _____ Date de réception de la carcasse : _____ Signature : _____	NOM : _____ Adresse : _____ Spécialité : _____ ☐ Atelier de transformation ☐ Centre d'écoulement commercial (foie) ☐ Commerce de détail ☐ Revue de Chasse, Association ☐ Autre : _____

EXAMEN INITIAL DES CARCASSES EN PEAU ET DES AILATS (cette étape, obligatoire, est à l'initiative du détenteur initial du gibier)

Commence de mise à mort : _____ CP : _____ Date de mise à mort : _____

Identification	Espèce	Sexe et âge	Précisions	MARCAGE					ÉVALUATION					Commentaires	
				Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire	Aléatoire			
N°1			2ème et 3ème fois												
N°2			2ème et 3ème fois												
N°3			2ème et 3ème fois												
N°4			2ème et 3ème fois												
N°5			2ème et 3ème fois												
N°6			2ème et 3ème fois												
N°7			2ème et 3ème fois												
N°8			2ème et 3ème fois												
N°9			2ème et 3ème fois												
N°10			2ème et 3ème fois												

LABORATOIRE
NOM : _____
Prénoms : _____
Spécialité : _____

- ☐ Anatomie
- ☐ Biologie
- ☐ Chimie
- ☐ Microbiologie
- ☐ Parasitologie
- ☐ Pathologie
- ☐ Toxicologie
- ☐ Zoologie

ÉVALUATION
(à effectuer par le détenteur initial du gibier)
Prépondérance (en % de la carcasse) : _____

- ☐ 100%
- ☐ 90%
- ☐ 80%
- ☐ 70%
- ☐ 60%
- ☐ 50%
- ☐ 40%
- ☐ 30%
- ☐ 20%
- ☐ 10%
- ☐ 0%

EXAMENATEUR INITIAL
NOM : _____
Prénoms : _____
Spécialité : _____

- ☐ Anatomie
- ☐ Biologie
- ☐ Chimie
- ☐ Microbiologie
- ☐ Parasitologie
- ☐ Pathologie
- ☐ Toxicologie
- ☐ Zoologie

Signature : _____

Implication de la FDC21 : D'autres actions annexes



Formation piégeage :

Recruter un maximum de piégeurs dans leurs rangs
1 à 2 formations par an



Participation aux réunions de voisinage:

Meilleure mise en relation avec les sociétés de chasse

Veille sanitaire sur la faune sauvage:

Participation réseau SAGIR



Remontée terrain pour les animaux potentiellement suspects

Financement des autopsies/ analyses réalisées sur les animaux de la faune chassable.



Implication de la FDC21 : D'autres actions annexes

Etablissement de contrats cynégétiques:

- Limiter les contacts interspécifiques au sein de la faune sauvage: Agrainage contrôlé en ligne et dispersé .
- Limiter les contacts entre faune sauvage et animaux d'élevage: Agrainage au cœur des massifs et pose de clôture.



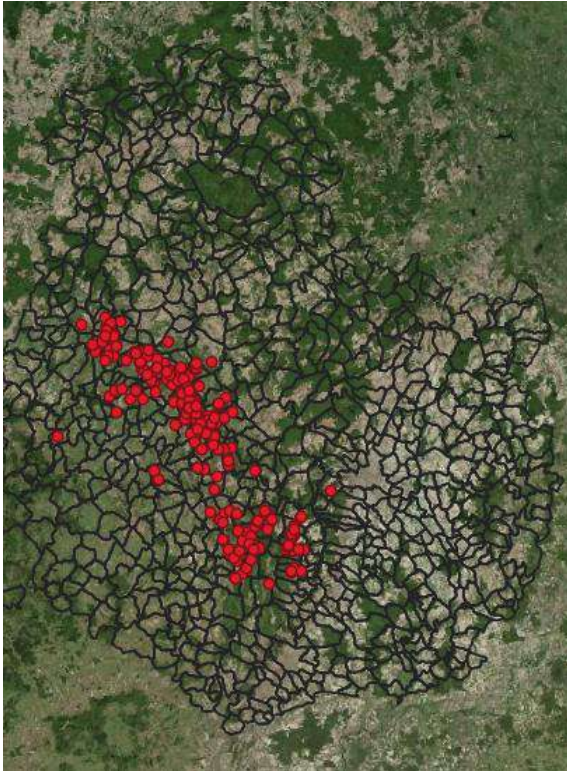
Utilité dans la circulation intra et interspécifiques des maladies

Exemple d'aménagement d'un point d'abreuvement

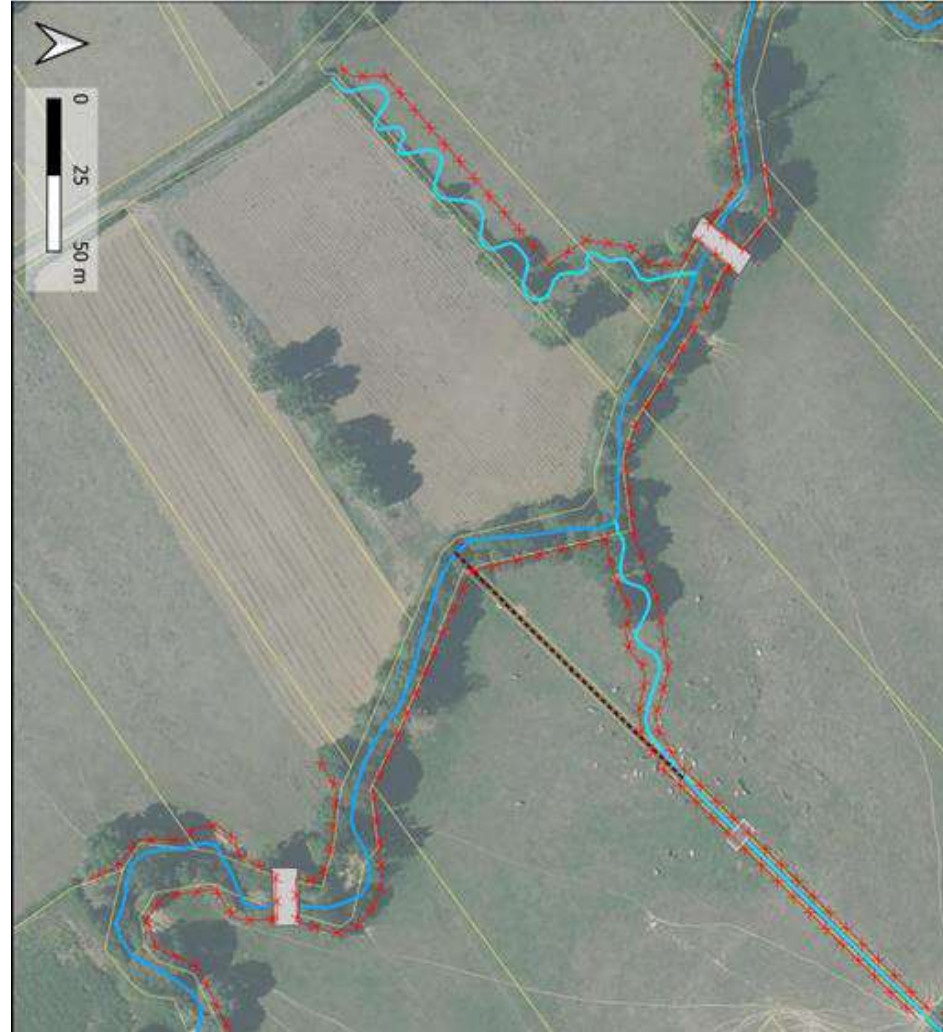


- Installation : septembre 2019
 - 100 vaches laitières en AOP Époisses
 - 220 Ha de SAU
-
- 2010 foyer tuberculose, abattage partiel
 - 2021 foyer tuberculose, abattage total

Exemple d'aménagement d'un point d'abreuvement

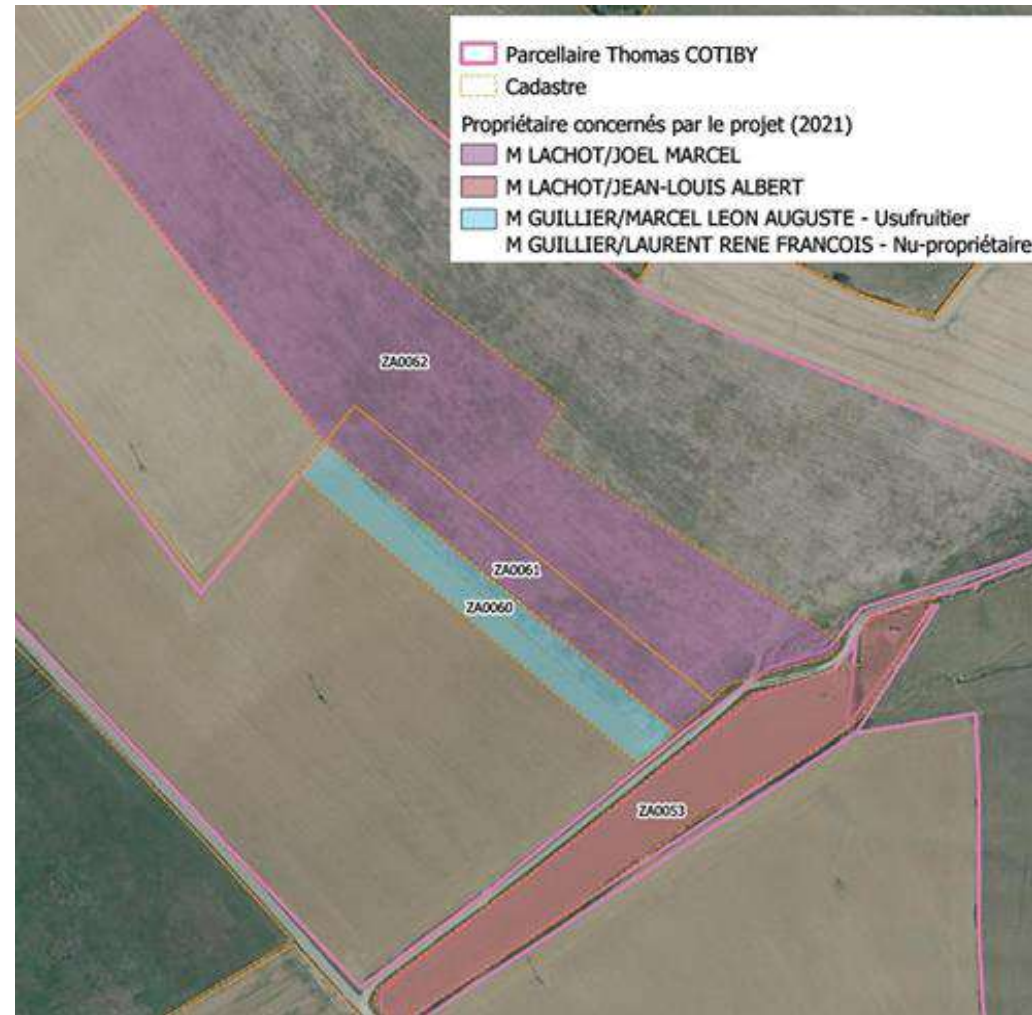


Exemple d'aménagement d'un point d'abreuvement



- Création de deux ponts
- Remise en état d'un fossé

Exemple d'aménagement d'un point d'abreuvement



- Création d'une haie pour limiter le ruissellement

Merci pour votre attention

Le verre de l'amitié vous est servi dans le hall de l'école!