



**HAL**  
open science

# Tuberculose bovine en France: son évolution décryptée par l'analyse génomique des souches de *Mycobacterium bovis*

Maria-Laura Boschioli, Franck Biet

## ► To cite this version:

Maria-Laura Boschioli, Franck Biet. Tuberculose bovine en France: son évolution décryptée par l'analyse génomique des souches de *Mycobacterium bovis*. *Innovations Agronomiques*, 2018, 66, pp.67-78. 10.15454/1.5408056284073337E12 . hal-02618335

**HAL Id: hal-02618335**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02618335>**

Submitted on 25 May 2020

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Tuberculose bovine en France : son évolution décryptée par l'analyse génomique des souches de *Mycobacterium bovis*

Boschioli M.-L.<sup>1</sup>, Biet F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ANSES, Laboratoire National de Référence (LNR), Unité Zoonoses Bactériennes (UZB), F-94700 Maisons-Alfort

<sup>2</sup> INRA Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly

**Correspondance** : Maria-laura.boschioli@anses.fr ; franck.biet@inra.fr

### Résumé

*Mycobacterium bovis* est l'agent étiologique principal de la tuberculose bovine (TB). Grâce aux mesures collectives appliquées pour détecter, éliminer les élevages infectés et protéger les élevages sains, la France est devenue indemne de TB en 2001. Mais cette zoonose à l'interface entre l'animal et l'homme reste endémique dans certaines zones, où la faune sauvage est également affectée. Dans ce contexte, l'analyse génotypique des souches de *M. bovis* isolées des systèmes multi-hôtes a dévoilé la nature complexe de la maladie. La réduction de la prévalence de la TB s'est accompagnée d'une diminution de la diversité génétique des souches à l'origine des foyers. Pourtant, des génotypes dominants persistent et circulent à la fois dans les élevages et la faune sauvage. Aujourd'hui, l'analyse du génome complet des souches, combinée aux études épidémiologiques, peut nous permettre d'affiner le scénario évolutif de *M. bovis* et d'appréhender si des phénomènes d'adaptation ou d'augmentation de leur pouvoir pathogène peuvent expliquer leur persistance et dissémination.

**Mots-clés** : Zoonose, Animaux de rente, Faune sauvage, Epidémiologie génomique

### **Abstract: Bovine tuberculosis in France: decoding of its evolution via the genomic analysis of *Mycobacterium bovis* strains**

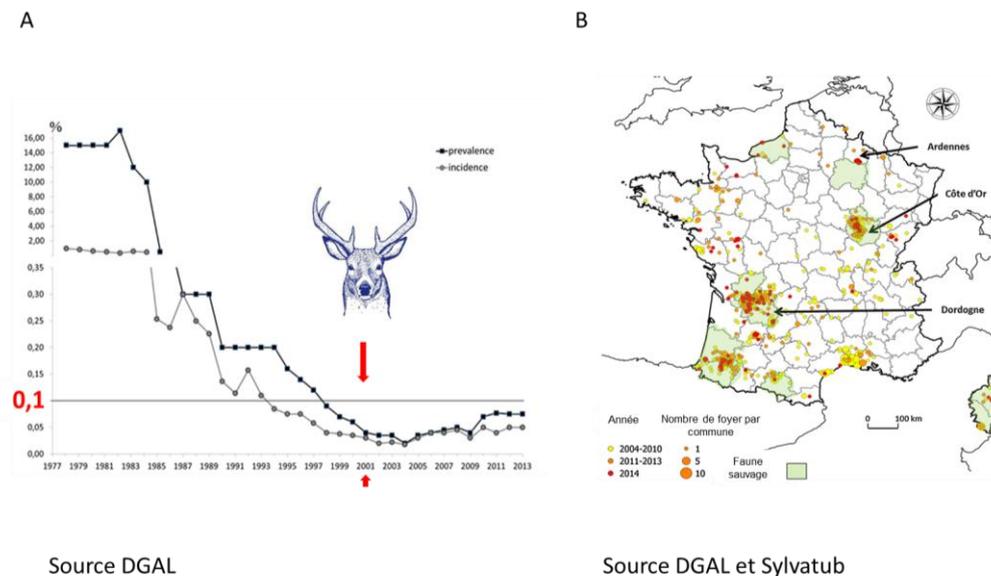
*Mycobacterium bovis* is the main etiological agent of bovine tuberculosis (TB). Due to collective measures applied to detect and cull infected herds and to protect TB-free ones, France obtained the TB-free status in 2001. However, this zoonosis at the animal-man interphase is still endemic in certain regions where wildlife is also affected. In this context, genotypic analyses of *M. bovis* strains isolated from multi-host systems demonstrated the complex nature of this disease. Reduction of TB prevalence was associated to a decrease of the genetic diversity of outbreaks' causative strains. Nonetheless, dominant genotypes exist that persist and circulate among livestock and wildlife. Today, analyses of strains' whole genomes, combined with classical epidemiological surveys, make it possible to refine the *M. bovis* evolution scenario and to understand if adaptation mechanisms or intensification of the bacterium pathogenic capacity can explain its current persistence and dissemination.

**Keywords**: Zoonosis, Livestock, Wildlife, Genomic epidemiology

### **Introduction : Tuberculose bovine : une menace toujours présente en France**

La tuberculose bovine (TB) est une maladie contagieuse qui fait l'objet d'une prophylaxie obligatoire depuis 1963. La lutte contre cette zoonose est structurée par une importante base réglementaire mise en œuvre par les services vétérinaires de l'Etat et qui s'appuie sur la collaboration technique des vétérinaires sanitaires, des groupements de défense sanitaire et des laboratoires vétérinaires d'analyse

agréés. Après une première phase de décroissance relativement rapide du nombre d'élevages infectés passant en 50 ans d'une prévalence cheptel annuelle d'environ 25 % à moins de 0,1 %, la France a obtenu le statut de pays officiellement indemne de TB de l'Union Européenne en 2000 (décision 2001/26/CE du 27 décembre 2000) (Figure 1). Cependant la lutte contre la TB, dont le coût annuel dépasse les 20 M€/an, n'est pas tout à fait gagnée. En effet, depuis quelques années un nombre croissant de foyers de TB en élevage est enregistré dans certaines régions comme la Bourgogne et la Nouvelle Aquitaine. Il s'agit principalement des régions à élevage allaitant extensif où plusieurs facteurs de risque liés à la diffusion locale de la tuberculose sont réunis : un parcellaire imbriqué qui entraîne des contacts plus fréquents entre bovins, des très longues périodes à l'herbe qui facilitent le contact avec une faune sauvage très dense ayant libre accès au pâturage. En effet, suite au premier signalement de *Mycobacterium bovis* identifié sur un animal sauvage en 2001 (forêt de Brotonne, Normandie) des investigations dans les zones de tuberculose bovine ont mis en évidence que notamment des sangliers, des blaireaux et des cervidés étaient régulièrement trouvés infectés par *M. bovis* (Figure 1). L'émergence et la persistance de la TB dans les populations sauvages pourraient expliquer la pérennisation de la TB dans les élevages. Dans plusieurs régions de France, *M. bovis* semble circuler dans un système multi-hôtes comprenant les bovins, plusieurs espèces sauvages et leur environnement ce qui complique le contexte épidémiologique et la gestion sanitaire de cette zoonose (Cavalerie et al., 2015).



Source DGAL

Source DGAL et Sylvatub

**Figure 1** : Evolution de la tuberculose bovine en France depuis 1977. (A) Evolution de la prévalence et de l'incidence de la tuberculose bovine (TB) de 1977 à 2013. Les flèches rouges indiquent l'année où la France a été reconnue officiellement indemne de tuberculose bovine et de la découverte du premier foyer de TB dans la faune sauvage. (B) Superposition de la distribution des foyers de tuberculose de 2000 à 2013 et répartition et résultats des analyses effectuées dans le cadre du dispositif Sylvatub sur la faune sauvage d'août 2012 à août 2013.

## 1. Tuberculose bovine zoonotique

La tuberculose zoonotique représentait une proportion importante des cas de tuberculose dans le monde occidental avant l'introduction des mesures de lutte contre l'infection chez l'animal, portant à la fois sur la surveillance sanitaire des troupeaux, l'inspection des carcasses en abattoir et les programmes de pasteurisation du lait. Ces pratiques sont beaucoup moins courantes dans les pays où la prévalence est plus élevée, comme en Afrique. [http://www.who.int/tb/publications/2017/zoonotic\\_TB/en/](http://www.who.int/tb/publications/2017/zoonotic_TB/en/).

Une revue de la littérature mondiale (Muller et al., 2013) réalisée en 2013 à la demande de l'OMS a montré que les chiffres les plus importants de cas de tuberculose zoonotique -dont ceux dus à *M. bovis*- sont répertoriés en Afrique où la médiane estimée était de 2,8 % des cas de tuberculose. Dans certains pays les taux étaient supérieurs à 15%. Sur le continent américain cette médiane était de 0,3%, (mais de 7,6% au Mexique). En Europe, elle était estimée à 0,4% avec une incidence inférieure à 1/105.

L'ingestion régulière et répétée de lait cru ou de produits laitiers contaminés et non pasteurisés et maturés moins de 60 jours est un mode connu de contamination. Elle reste le mode de contamination le plus fréquent dans les pays en voie de développement, mais elle est devenue exceptionnelle dans les pays industrialisés grâce à la pasteurisation et la surveillance vétérinaire des élevages. Le passage de *M. bovis* dans le lait est généralement très faible et seulement 2% environ des vaches laitières infectées en excréteraient dans leur lait (Franco et al., 2013). Cette voie de contamination nécessite une ingestion régulière et répétée de lait cru contaminé provenant d'animaux présentant des lésions mammaires. Or, en pratique, cette situation, qui correspond à des animaux présentant aussi des lésions diffuses de TB, n'est plus retrouvée actuellement en France.

L'inhalation est un des modes de contamination à prendre en compte dans l'évaluation du risque professionnel de la maladie (Sunder et al., 2009). La transmission se fait par contact direct de *M. bovis* avec la muqueuse respiratoire. Néanmoins, tenant compte de la faible transmissibilité de *M. bovis* à l'homme, les circonstances professionnelles d'exposition respiratoire ne concernent que celles pouvant mettre en suspension en quantité suffisante et de façon répétée du *M. bovis* dans l'air inhalé (par exemple, l'exposition rapprochée et répétée dans un lieu confiné avec un animal présentant une tuberculose pulmonaire active ou la réalisation de tâches prolongées et itératives sur des carcasses très infectées avec aérosolisation) (Buss et al., 2016 ; de la Rua-Domenech, 2006).

Malgré l'augmentation du nombre de cas retrouvés en France chez les animaux, dans certaines régions, l'incidence de la tuberculose maladie liée à *M. bovis* chez l'Homme reste très faible et stable, tant dans la population générale qu'au sein de groupes professionnellement exposés. La prévalence et l'incidence de la tuberculose zoonotique humaine est globalement très faible (Antoine et Jarlier, 2010 ; Cosivi et al., 1998; EFSA et EFSA Control, 2013). En 2013, le réseau de laboratoire AZAY-Mycobactéries des CHU, qui identifie en routine l'espèce de mycobactéries, rapporte le chiffre de 0.9% de tuberculoses maladies dues à *M. bovis* sur 1119 cas (soit 10 cas : 4 personnes nées en France et âgées de plus de 60 ans et 6 nées au Maghreb ou en Afrique Sub-saharienne). L'extrapolation de ces chiffres à la France entière laisse supposer l'existence d'une cinquantaine de cas annuels à *M. bovis*. [http://cnrmyctb.free.fr/IMG/pdf/Rapport\\_CNR\\_2014\\_web.pdf](http://cnrmyctb.free.fr/IMG/pdf/Rapport_CNR_2014_web.pdf)

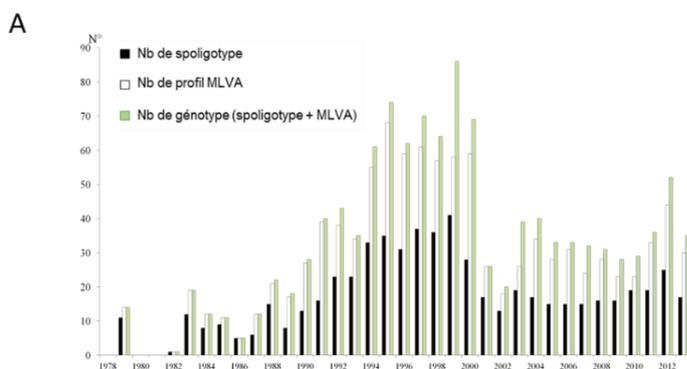
## 2. Une maladie multifactorielle

La tuberculose bovine est une maladie dont les facteurs de risque sont nombreux et variés. Les plus importants concernent ceux liés à l'animal (âge, type racial, statut immunitaire, résistance et susceptibilité en rapport à la génétique de l'animal) mais également et surtout ceux liés à l'élevage et aux pratiques zootechniques (historique de TB dans le cheptel, type d'élevage, manque de performance des tests de dépistage, mouvements d'animaux, présence de faune sauvage ou d'autres animaux domestiques...) (Humblet et al., 2010). Néanmoins, un autre facteur relevant pour investiguer l'émergence de la TB à l'heure actuelle est celui de la génétique de populations de *M. bovis* à l'origine des foyers.

Ainsi, pour mieux comprendre la situation épidémiologique de la tuberculose bovine sur le territoire à présent, nous avons entrepris un projet de recherche sur l'étude génétique de souches *M. bovis* de terrain disponibles au Laboratoire National de Référence Tuberculose (ANSES) afin de disposer de données permettant d'étudier la dynamique de cette zoonose et de mieux comprendre sa nature complexe.

### 3. Evolution des souches de *M. bovis* isolées en France au cours de ces 3 dernières décennies

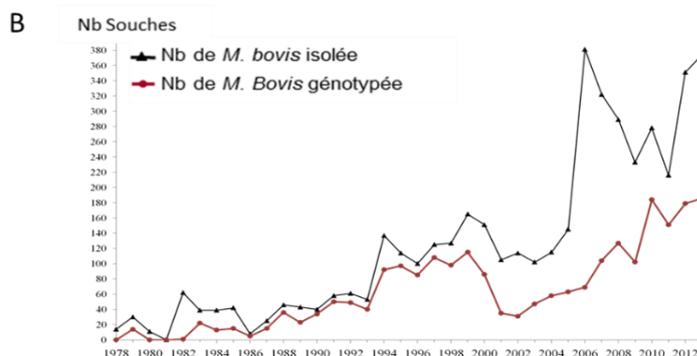
Pour étudier la dynamique de cette zoonose nous avons dressé le portrait les souches qui circulent en France depuis 30 ans. Deux méthodes de génotypage largement utilisées ont été choisies: le spoligotypage et le typage MLVA (Multi Locus Variable Analysis) (Aranaz et al., 1996 ; Hauer et al., 2016) qui permettent d'établir une différenciation entre souches de mycobactéries en tenant compte d'une relative stabilité génétique. La combinaison de ces deux techniques permet une différenciation très fine des souches ; ainsi 706 génotypes différents ont pu être identifiés en France entre 1978 et 2013 à partir de 2332 souches de *M. bovis* isolées dans des foyers bovins et chez des animaux sauvages (Figure 2). En France, d'importantes fluctuations de la variabilité génétique de *M. bovis* ont été constatées au cours du temps et selon la zone géographique, avec une diminution globale de la diversité des souches au cours des quinze dernières années, qui peut s'expliquer par la diminution de la prévalence de l'infection au niveau national (Figure 2).



**Figure 2** : Evolution de la tuberculose bovine en France de 1978 à 2013.

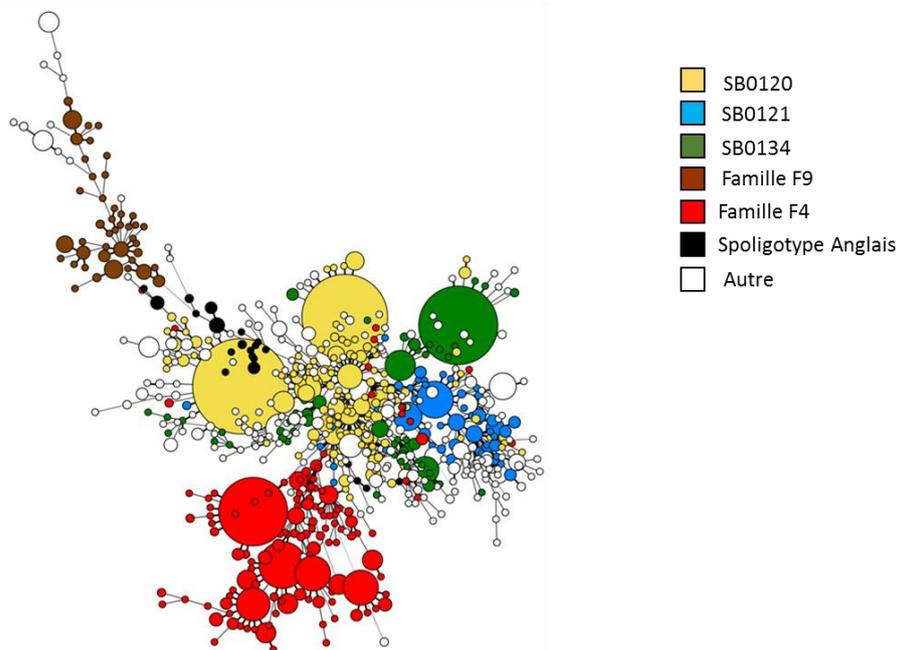
(A) évolution de la diversité génétique des souches, profils spoligotype et MLVA.

(B) évolution annuelle du nombre de souches mises en collection et génotypées au LNR.



Trois spoligotypes prédominant, SB0120, SB0134 et SB0121. Ils représentent près de la moitié des isolats soit respectivement 26%, 11% et 6% de la population totale des souches. En outre, 11% des isolats spoligotypés, principalement d'origine du sud de la France, avec des caractéristiques communes dans les locus DR (répétition directe) et MIRU-VNTR (unités répétitives intercalées mycobactériennes - nombre variable de répétitions en tandem), sont réunis dans un groupe désigné sous le nom de "famille F4". Il est intéressant de constater que les 3 principaux spoligotypes sont également présents dans les pays frontaliers ayant une longue histoire de commerce avec la France: l'Italie, où les souches SB0120 sont les plus communes et représentent 56% des souches, et l'Espagne où, SB0121 et SB0134 représentant 28% et 11% respectivement. La similitude des génotypes de *M. bovis* entre les pays est probablement une conséquence du partage des souches dominantes de *M. bovis* entre les régions et les pays par le commerce ; ce qui pourrait être le cas des souches SB0121 appartenant au complexe clonal Eu2 dominant dans la péninsule Ibérique, et SB0120 souches dominantes en Italie (Hauer et al., 2014).

Les groupes majoritairement identifiés, SB0120, SB0134, SB0121 et la « famille F4 », ont été différenciés plus finement par le génotypage MLVA ce qui augmente la puissance des études d'épidémiologie moléculaire (Hauer et al., 2016). Ainsi les principaux spoligotypes peuvent être divisés en plusieurs types MLVA: 154 profils différents pour SB0120, 53 pour SB0134 et 50 pour SB0121 (Figure 3).



**Figure 3** : Distance génétique entre les souches de *M. bovis* de terrain. « Minimum Spanning Tree » (MST) des 2332 souches de *M. bovis* isolées entre 1978 et 2013. 706 génotypes différents ont été obtenus par combinaison du spoligotypage et typage MLVA. La distance entre les nœuds représente une distance génétique entre profils.

Cette étude a mis en évidence une forte réduction de la variabilité génétique des souches au cours de la dernière décennie (Hauer et al., 2015) (Figure 2). Ce phénomène est peut-être lié à l'efficacité du programme de lutte contre la TB responsable de la disparition de la maladie dans plusieurs régions françaises. La réduction de la diversité génotypique peut aussi s'expliquer par les changements dans les pratiques d'élevages introduites au cours des 20 dernières années, principalement la professionnalisation de l'activité des éleveurs. Il est frappant de constater qu'au cours de la dernière décennie, la majorité des cas sont dus à un nombre limité de génotypes de *M. bovis*. Ces génotypes particuliers semblent proliférer dans les systèmes multi-hôtes, incluant la faune sauvage, à un niveau local. En outre, l'analyse de la distribution et de l'évolution du TB en France au cours de la dernière décennie a montré que les foyers actuels sont plus fréquemment dus à la propagation de *M. bovis* dans les troupeaux « allaitants » que dans les troupeaux laitiers.

Dans les zones où le TB est endémique, nous constatons que l'origine des foyers est due à un seul génotype, c'est-à-dire des profils de spoligotypes et de MLVA, localement répandus, à la fois chez les bovins et chez les animaux sauvages. Cela tend à prouver que la bactérie n'est pas seulement adaptée à un hôte animal particulier. Il est maintenant accepté que *M. bovis* puisse évoluer dans un système multi-hôte, affectant de nombreuses espèces animales sauvages telles que blaireaux, sangliers, cerfs et bovins. En conséquence, des stratégies de surveillance et de contrôle pour combattre la maladie efficacement doivent être appliquées chez toutes les espèces sensibles.

Pour comprendre la persistance et la régionalisation de certaines souches de *M. bovis* capables de franchir la barrière des espèces et d'infecter des espèces animales de la faune sauvage, nos travaux se sont orientés sur les approches génomiques.

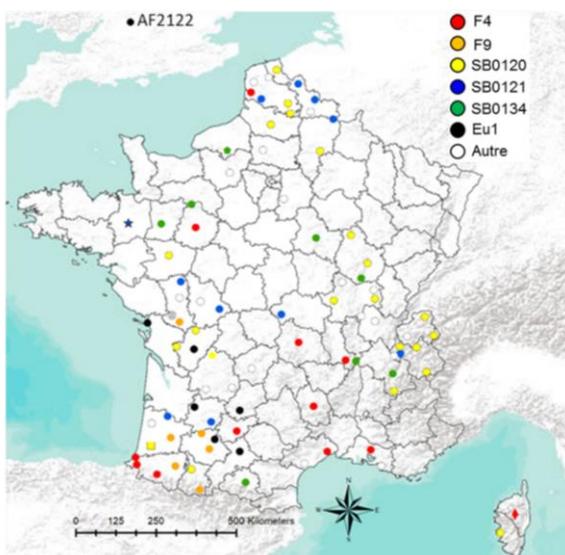
#### 4. L'ère post génomique : apport des technologies « NGS »

Si l'utilité du spoligotypage et du MLVA sont des outils incontestés pour les investigations épidémiologiques, des études récentes basées uniquement sur les résultats de spoligotypes et MLVA montrent les limites de ces méthodes pour retracer l'origine d'une infection (Rodriguez-Campos et al., 2011). Ces techniques de typage ciblent des régions génétiques polymorphes, interrogent moins de 1% du génome et ont donc un pouvoir discriminant intrinsèquement restreint. En outre, en ce qui concerne le spoligotypage, la suppression du même type d'« espaceur » peut se produire dans des sous-lignées entièrement distinctes d'une phylogénie (Corner et al., 1995). De même, le nombre de copies de MIRU - VNTR à chaque locus peut augmenter ou diminuer pendant la réplication de l'ADN donnant la possibilité de motifs identiques dans des sous-lignées séparées (Corner et al., 1995). Ces limitations peuvent être surmontées par l'analyse du séquençage du génome entier (WGS) pour les populations clonales appartenant à des phylogénies hautement concordantes avec une homoplasie forte. Le WGS peut fournir des informations génétiques complètes, y compris toutes les cibles génomiques possibles, ainsi que des informations supplémentaires sur l'évolution du génome, les déterminants de virulence et les traits de résistance. En utilisant le WGS, l'analyse des polymorphismes mononucléotidiques (SNP) est apparue comme un outil robuste pour étudier des souches étroitement apparentées de mycobactéries pathogènes (Garcia Pelayo et al., 2009 ; Homolka et al., 2012 ; Joshi et al., 2012).

A la suite de nos travaux de génotypage des souches de terrain de *M. bovis*, nous avons entrepris une analyse SNP basée sur le WGS pour identifier des relations phylogénétiques précises entre les souches françaises de *M. bovis*.

##### 4.1 Sélection d'un panel de 87 souches

Sur la base des données de génotypage un panel de 87 souches de *M. bovis* représentatives de la diversité génétique présent en France a été choisi pour les études génomiques. Le séquençage complet du génome de ces 87 souches a été obtenu par la technologie Illumina HiSeq (Genoscreen, Institut Pasteur, Lille). La Figure 4 décrit les caractéristiques génotypiques et l'origine géographique des 87 souches du panel ainsi que la souche de *M. bovis* AF2122 dont la séquence est utilisée comme référence.

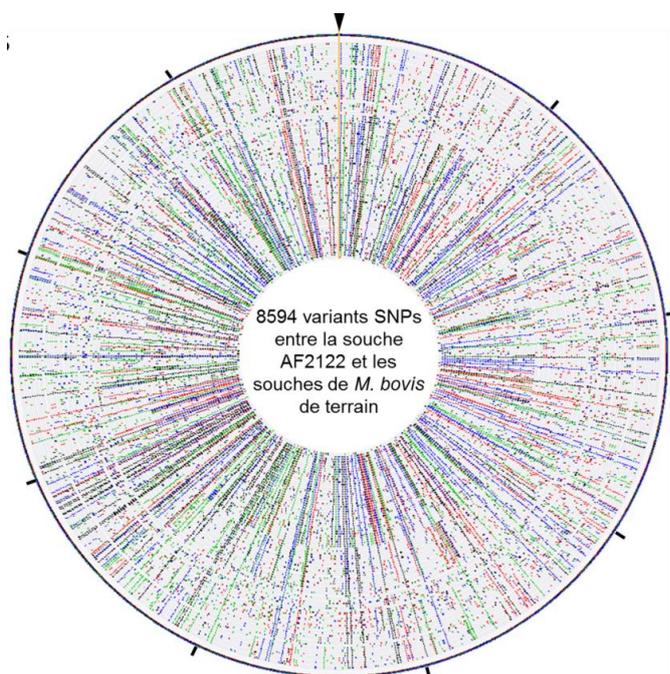


**Figure 4 :** Répartition géographique des 87 isolats de *M. bovis* séquencés. Les souches sélectionnées sur la base de leur spoligotype (indiqué par les différentes couleurs) et de leur profil MLVA sont représentatifs de la diversité génétique des souches présentes en France. Ce panel comprend des souches isolées de bovins (cercles), de caprins (triangles), d'ovins (étoiles) et d'animaux sauvages, sangliers (losanges), et des cerfs (carrés).

## 4.2 WGS et phylogénie : analyse basée sur les SNP

La comparaison des données de séquençage des 87 souches de terrain avec la séquence de référence de *M. bovis* AF2122 a permis d'identifier des mutations SNPs (*Single nucleotide polymorphism*). Parmi les 9170 SNP identifiés, 7998 étaient des SNP intra géniques et 1172 étaient dans les régions inter-géniques. La distribution des SNP couvre l'ensemble du chromosome (Figure 5).

Les groupes clonaux précédemment décrits en France par génotypage classique ont été confirmés par analyse des SNP(s) et d'autres groupes moins prépondérants ont également été identifiés pour la première fois. L'analyse phylogénétique établie sur la base des SNP est congruente avec celle établie préalablement en combinant les techniques classiques de spoligotypage et de MLVA (Figure 6). De plus, les résultats montrent que la résolution en clade est meilleure avec les analyses SNP que celle obtenue avec la combinaison spoligotypage et MLVA. Ces observations confirment que les SNP sont de meilleurs marqueurs phylogénétiques pour les souches de *M. bovis*.

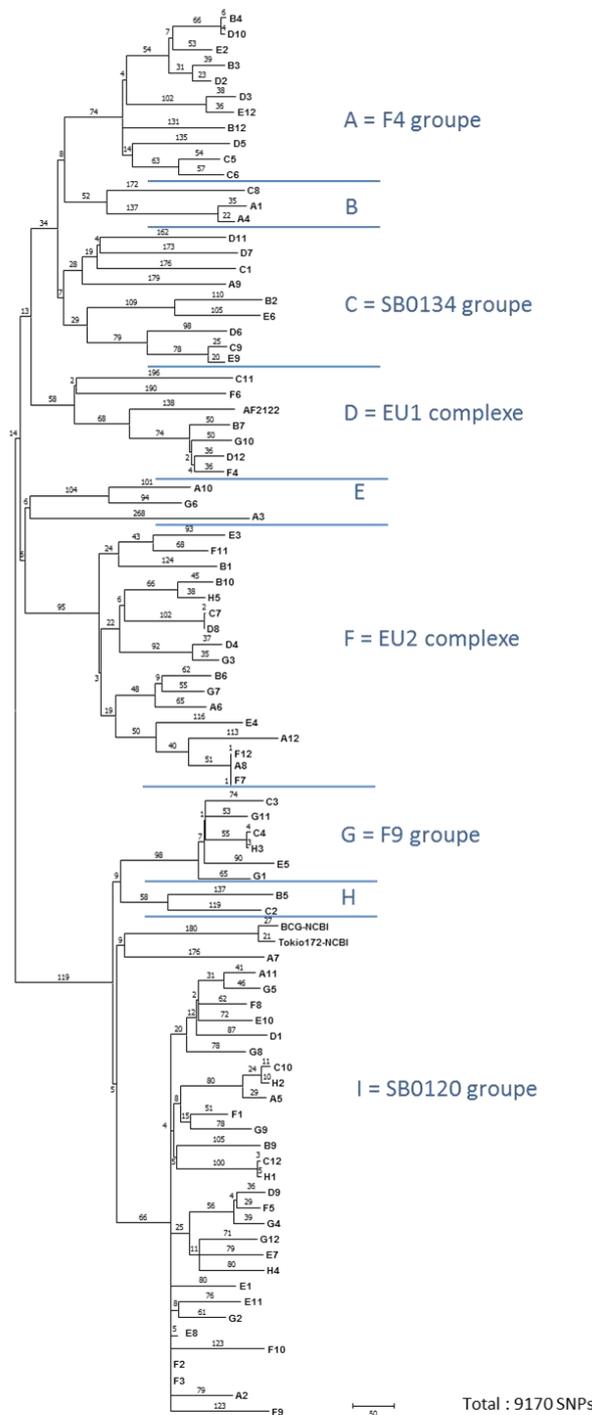


**Figure 5 :** Vue globale de la distribution des SNP sur le génome de *M. bovis*. 8594 variants SNP ont été identifiés entre la souche de référence *M. bovis* AF2122 et les 87 isolats de terrain français. Les changements de base sont indiqués par les points de couleur, A en vert, C en bleu, G en noir et T en rouge.

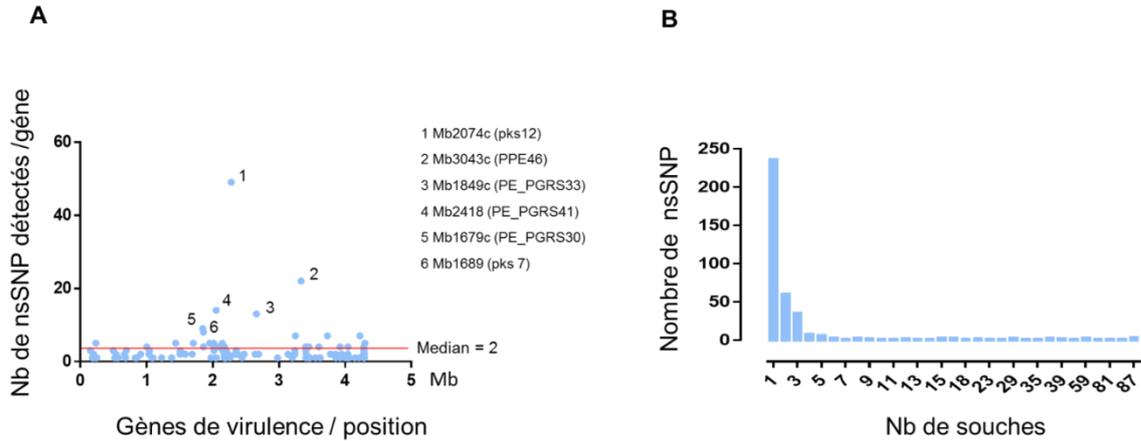
Le dendrogramme présenté à la Figure 6 détaille le nombre de SNP séparant chaque souche répartie dans les 9 groupes, dont 6 précédemment décrits dans la littérature (Hauer et al., 2015 ; Rodriguez-Campos et al., 2012 ; Smith, 2012) et 3 nouveaux groupes moins représentatifs. Sur un total de 9170 SNPs, nous avons établi un catalogue de SNPs spécifiques à chaque famille clonale. Cette analyse confirme la coexistence de plusieurs groupes en France, certains d'entre eux étant déjà définis comme des groupes clonaux. Ces résultats montrent qu'il est possible d'identifier des SNP spécifiques de chaque famille de clades. Ces SNPs pourront être utilisés pour développer une nouvelle technique de génotypage MLST afin de faciliter les études épidémiologiques et les rendant universelles.

Nous avons montré que les SNPs sont de bons marqueurs pour affiner la résolution de la population des isolats de *M. bovis* avec une meilleure définition des clades mais aussi l'identification de nouveaux groupes. Comme le montre la littérature, certains SNP peuvent être liés à des modulations de la virulence chez les mycobactéries pathogènes. Pour savoir si les différents groupes clonaux de *M. bovis* peuvent être associés à des caractères de virulence différents, la variation des SNP non-synonymes (nsSNP) a été étudiée sur 182 gènes de virulence sélectionnés à partir des données de la littérature (Forrellad et al., 2013 ; Sasseti et Rubin, 2003). Sur ces 182 gènes, 30 ne présentent aucune mutation. Parmi les 87 génomes, 152 gènes ont au moins un SNPs et au total 568 SNP ont été identifiés, dont

176 synonymes et 392 non synonymes. De façon intéressante certains gènes présentent des mutations non synonymes spécifiques à une ou plusieurs familles (Figure 7). Par ailleurs certains gènes sont beaucoup plus fréquemment mutés (taux médian = 2). C'est notamment le cas de 6 gènes : Mb2074c (pKS12, 12457 acides aminés) avec 49 variants SNP, Mb3043c (PPE46, 1315 acides aminés) 22 variants, Mb1849c (PE-PGRS33, 1507 acides aminés) 14 variants, Mb2418 (PE\_PGRS41, 1084 acides aminés) 13 variants, Mb 1679c (PE\_PGRS30, 3058 acides aminés) 9 variants et Mb1689 (pks7, 6382 acides aminés) 8 variants. Nous avons observé que, sauf pour le Mb2074c, le taux de mutation détecté n'est pas toujours corrélé à la taille du gène.

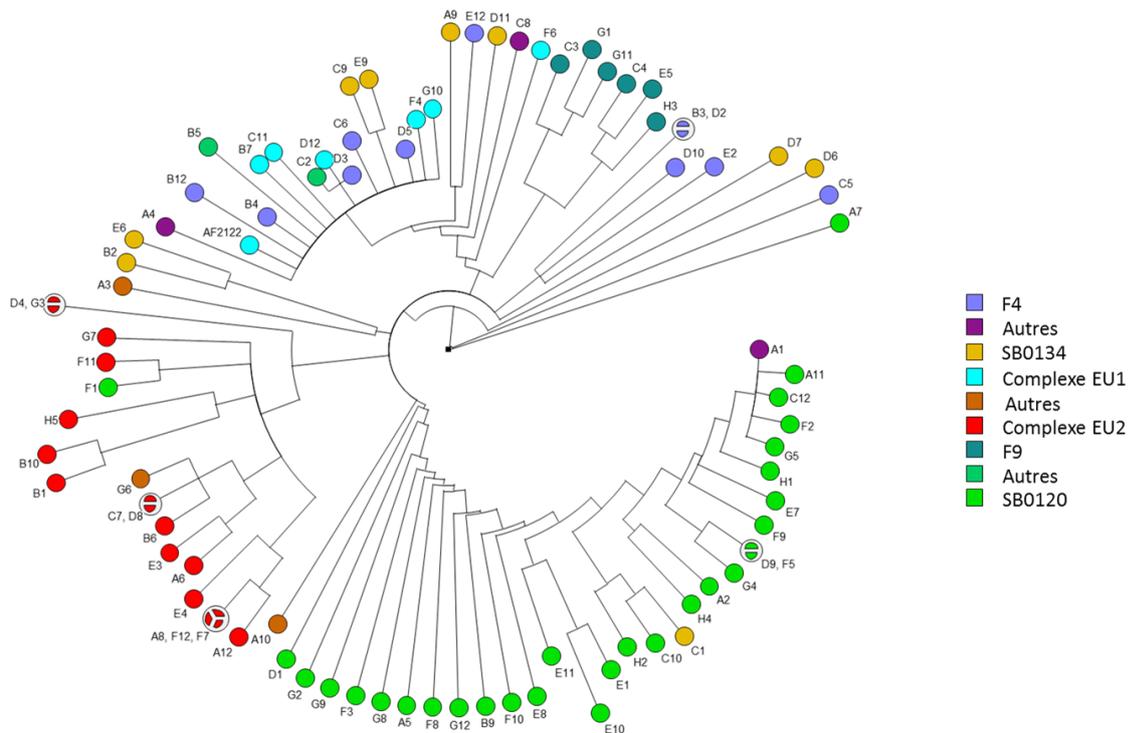


**Figure 6** : Identification de SNP spécifiques de famille. Le dendrogramme a été réalisé à partir des 9170 SNP qui discriminent les 87 souches de terrain de *M. bovis*. Les souches se regroupent par les familles définies par les techniques classiques de spoligotypage et MLVA. Il apparait que chaque famille de souche peut être différenciée par au moins un SNP.



**Figure 7 :** Détection des SNP non synonymes sur 182 gènes de virulence. Une sélection de 182 gènes essentiels à la virulence de la bactérie a été analysée. Les SNP non synonymes ont été recherchés pour chaque souche de terrain en comparaison avec la souche de référence de *M. bovis* AF2122. Au total 392 nsSNP ont été détectés sur l'ensemble des souches. (A) Nombre de nsSNP par gènes. (B) Fréquence des nsSNP par souche.

Ces analyses, illustrées par le dendrogramme présenté sur la Figure 8, mettent en évidence que les SNPs détectés sur les gènes de virulence sont capables de discriminer les souches par groupes clonaux. Ces observations laissent supposer qu'il existe des modulations de virulences entre groupes clonaux. Globalement, ces résultats indiquent qu'en plus de leurs différences phylogénétiques, chaque groupe clonal peut avoir des traits phénotypiques différents voire des traits de virulence différents.



**Figure 8 :** Répartition des souches par traits de virulence. Le dendrogramme a été établi sur la base des 392 nsSNP détecté ciblant 182 gènes de virulence sur l'ensemble des souches.

## Conclusion et perspectives

Les outils de caractérisation moléculaire en tuberculose bovine sont d'une très grande utilité pour compléter les approches épidémiologiques conventionnelles. Ils permettent d'améliorer l'investigation de foyers, d'orienter la mise en place de nouveaux schémas de surveillance mais également d'évaluer l'efficacité des programmes de contrôle. En effet, pour adapter les mesures de contrôle actuelles au niveau local, de nouvelles méthodes de typage très discriminantes basées sur le séquençage du génome complet des bactéries, sont à envisager (Biek et al., 2012).

L'ensemble de nos travaux montre que les études basées sur les analyses des génomes entiers permettent de progresser sur la connaissance fine de la phylogénie des souches mais également sur leur différence phénotypique.

La surveillance vétérinaire de la tuberculose bovine associée aux données environnementales renseignant la pathologie, la dissémination, la prévalence intra-troupeau et la présence de l'infection dans la faune sauvage doivent être utilisées dans les études épidémiologiques en associant la description précise des génotypes des souches. La modélisation de l'infection à *M. bovis* peut être un outil précieux pour mettre en place de nouvelles mesures prophylactiques.

Avec le portrait des souches de *M. bovis* qui se précise, la question qui vient naturellement est de savoir si ce qui est détecté en terme de différence de pathologie, virulence, transmission inter et intra hôtes peut être associé ou attribué à des lignées génétiques spécifique ? Pour répondre à cette question des recherches seront nécessaires sur modèles cellulaire (macrophage) mais également les modèles *in vivo* bovin et animaux de la faune sauvage. Ces modèles seront utiles pour mettre à jour des différences entre lignées sur la survie cellulaire, la viabilité, le pouvoir pathogène et la capacité de transmission.

Pour en savoir plus sur l'identification de phénotypes différents entre lignées, il sera nécessaire de développer des recherches sur les gènes de virulence, les ARN interférents, les pseudo-gènes et les éléments transposables. L'identification des mécanismes de virulence mis en œuvre pourront être validés par mutagénèse.

D'autres facteurs pourraient être mis en avant pour expliquer la propagation locale de ces souches, dont des facteurs épidémiologiques. En effet, la contamination de la plupart des élevages allaitants où la tuberculose sévit largement, se produirait très probablement au pâturage. Le parcellaire imbriqué qui amène des contacts plus fréquents entre animaux, peut conduire au phénomène de diffusion locale de la maladie (Dommergues et al., 2012). La faune sauvage étant très dense dans certaines zones et ayant libre accès au pâturage a donc de grandes chances d'entrer en contact direct ou indirect avec les bovins à l'herbe, ce qui contribue sans doute à la diffusion locale de l'infection (Courcoul et al., 2013). Les réservoirs environnementaux, animaux sauvages et microfaune, sont aujourd'hui de plus en plus pris en compte pour mieux comprendre la persistance de cette maladie réglementaire.

Comme il est indiqué dans cet article et dans la littérature, la tuberculose bovine reste toujours une menace très présente pour l'élevage et donc pour l'homme. L'amélioration de la situation sanitaire des élevages infectés, voire surinfectés, et au final le contrôle de la tuberculose bovine nécessitent encore de déployer de gros investissement dans la recherche.

Pour le futur, retour sur le passé. Le vaccin BCG, utilisé depuis 1921, a été développé par le médecin Albert Calmette et le vétérinaire Jean Maire Camille Guérin en atténuant une souche de *M. bovis* d'origine bovine pour protéger les humains contre la tuberculose (Calmette et Guerin 1924). Cette collaboration est en quelque sorte une première illustration du concept «une seule santé». En effet l'éradication de la tuberculose chez l'homme ou chez l'animal peut viser différents objectifs : la santé humaine, le risque zoonotique, le bien-être des animaux mais également les raisons socio-économiques (Palmer et al., 2012). Ces différents objectifs peuvent être réunis dans une approche intégrée de santé unique interdisciplinaire / médicale interdisciplinaire.

## Références bibliographiques

- Antoine D., Jarlier V., 2010. La tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis* en France. BEH hors série Zoonoses 09: 28.
- Aranaz A., et al., 1996. Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. J. Clin. Microbiol. 34: 2734-2740.
- Biek R., et al., 2012. Whole genome sequencing reveals local transmission patterns of *Mycobacterium bovis* in sympatric cattle and badger populations. PLoS Pathog 8: e1003008. doi: 10.1371/journal.ppat.1003008
- Buss B.F., et al., 2016. Possible Airborne Person-to-Person Transmission of *Mycobacterium bovis* - Nebraska 2014-2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 65: 197-201. doi: 10.15585/mmwr.mm6508a1
- Calmette A., Guerin C., 1924. Essai d'immunisation contre l'infection tuberculeuse. Bull Acad Med Paris 91: 787-796.
- Cavalerie L., Courcoul A., Boschioli M., Réveillaud E., Gay P., 2015. Tuberculose bovine en France en 2014 : une situation stable. Bull Epid Santé Anim Alim 71: 4-11.
- Corner L.A., Trajstman A.C., Lund K., 1995. Determination of the optimum concentration of decontaminants for the primary isolation of *Mycobacterium bovis*. N Z Vet J 43: 129-133. doi: 10.1080/00480169.1995.35871
- Cosivi O., et al., 1998. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. Emerg Infect Dis 4: 59-70. doi: 10.3201/eid0401.980108
- Courcoul A., Moutou F., Vialard J., 2013. Tuberculose bovine: investigations épidémiologiques au sein de troupeaux bovins infectés à plusieurs reprises. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 56: 10-14.
- de la Rua-Domenech R., 2006. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. Tuberculosis (Edinb) 86: 77-109. doi: 10.1016/j.tube.2005.05.002
- Dommergues L., Rautureau S., Petit E., Dufour B., 2012. Network of contacts between cattle herds in a French area affected by bovine tuberculosis in 2010. Transbound Emerg Dis 59: 292-302. doi: 10.1111/j.1865-1682.2011.01269.x
- EFSA (EFSA, Control) EECfDPa, 2013. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. EFSA Journal 11.
- Forrellad M.A., et al., 2013. Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Virulence 4: 3-66. doi: 10.4161/viru.22329
- Franco M.M., et al., 2013. Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil. BMC Vet Res 9: 85. doi: 10.1186/1746-6148-9-85
- Garcia Pelayo MC, et al. 2009. A comprehensive survey of single nucleotide polymorphisms (SNPs) across *Mycobacterium bovis* strains and *M. bovis* BCG vaccine strains refines the genealogy and defines a minimal set of SNPs that separate virulent *M. bovis* strains and *M. bovis* BCG strains. Infect Immun 77: 2230-2238. doi: 10.1128/IAI.01099-08
- Hauer A., et al., 2014. Comparaison des souches de *Mycobacterium bovis* isolées, en France en élevage et dans la faune sauvage grâce aux techniques d'identification moléculaire. Épidémiol. et santé anim. 65: 77-86.
- Hauer A., et al., 2015. Genetic Evolution of *Mycobacterium Bovis* Causing Tuberculosis in Livestock and Wildlife in France since 1978. PLoS One 10: e0117103. doi: 10.1371/journal.pone.0117103
- Hauer A., et al., 2016. MIRU-VNTR allelic variability depends on *Mycobacterium bovis* clonal group identity. Infect Genet Evol 45: 165-169. doi: 10.1016/j.meegid.2016.08.038
- Homolka S., et al., 2012. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms. PLoS One 7: e39855. doi: 10.1371/journal.pone.0039855

- Joshi D., et al., 2012. Single nucleotide polymorphisms in the *Mycobacterium bovis* genome resolve phylogenetic relationships. J Clin Microbiol 50: 3853-3861. doi: 10.1128/JCM.01499-12
- Muller B., et al., 2013. Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humans. Emerg Infect Dis 19: 899-908. doi: 10.3201/eid1906.120543
- Palmer M.V., Thacker T.C., Waters W.R., Gortazar C., Corner L.A., 2012. *Mycobacterium bovis*: A Model Pathogen at the Interface of Livestock, Wildlife, and Humans. Vet Med Int 2012: 236205. doi: 10.1155/2012/236205
- Rodriguez-Campos S., et al., 2011. Limitations of spoligotyping and variable-number tandem-repeat typing for molecular tracing of *Mycobacterium bovis* in a high-diversity setting. J Clin Microbiol 49: 3361-3364. doi: 10.1128/JCM.00301-11
- Rodriguez-Campos S., et al., 2012. European 2--a clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in the Iberian Peninsula. Infect Genet Evol 12: 866-872. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.004
- Sasseti C.M., Rubin E.J., 2003. Genetic requirements for mycobacterial survival during infection. Proc Natl Acad Sci U S A 100: 12989-12994. doi: 10.1073/pnas.2134250100
- Smith N.H., 2012. The global distribution and phylogeography of *Mycobacterium bovis* clonal complexes. Infect Genet Evol 12: 857-865. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.007
- Sunder S., et al., 2009. Human-to-human transmission of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in immunocompetent patients. J Clin Microbiol 47: 1249-1251. doi: 10.1128/JCM.02042-08

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL ou DOI).