

Projet n° RF 6182 : Modélisation spatio-temporelle de la dynamique d'infection à *Mycobacterium bovis* en Belgique (DYNATUB)

Durée du projet : 2 ans

Mai 2009 – Rapport final

Promoteur : Prof. Claude Saegerman, Université de Liège
Département des Maladies Infectieuses et Parasitaires
Unité de recherche en Epidémiologie et Analyse de Risques

Co-Promoteur : Dr Karl Walravens (jusqu'au 31 mars 2008)
Dr Marc Govaerts (à partir du 1^{er} avril 2008)
Centre d'études et de recherches vétérinaires et agro-chimiques

Partenaires scientifiques : Dr Maryse Fauville-Dufaux, Centre de Références des Mycobactéries
Institut de Santé Publique

Dr Ing. Marius Gilbert , Lutte Biologique et Ecologie Spatiale
Université Libre de Bruxelles

Professeur Dirk Berkvens, Département de Médecine Vétérinaire
Institut de Médecine Tropicale d'Anvers

Chercheur : Dr Marie-France Humblet, Université de Liège
Département des Maladies Infectieuses et Parasitaire
Unité de recherche en Epidémiologie et Analyse de Risques

Table des matières

A. Introduction générale – situation de la problématique

B. Objectifs de la recherche

C. Matériel et méthodes

C.1. Bases de données

C.2. Livraisons de doses de tuberculine aviaire et bovine

C.3. Déclarations de lésions pour suspicion de tuberculose dans les abattoirs (période : 1^{er} janvier 1995 au 31 décembre 2005)

C.3.1. Approche générale (toutes espèces)

C.3.2. Espèce porcine

C.3.3. Espèce bovine

C.3.4. Résumé des observations

C.4. Enquête sur l'utilisation des tuberculines par les vétérinaires praticiens

C.4.1. Introduction

C.4.2. Matériels et méthodes

a) participation des vétérinaires

b) questionnaires

c) élaboration d'une échelle de scores

d) analyse statistique

C.4.3. Résultats et discussion

a) taux de participation

b) questionnaire

c) questionnaire standard et échelle de scores

C.5. Récapitulatif des différentes tâches

C.5.1. Tâche 1

a) sous-tâches 1 et 2 : typage moléculaire des souches de *M. bovis*

b) sous-tâche 3 : liaison entre souches et numéros de troupeaux

C.5.2. Tâche 2 : Récolte, validation des données nécessaires au projet et création d'une base de données relationnelle et visite de 50 abattoirs

C.5.3. Tâche 3 : choix d'une unité de temps et d'une unité d'espace pertinentes

C.5.4. Tâche 4 : identification d'indicateurs ou de facteurs de risque de tuberculose bovine

C.5.5. Tâche 5 : analyse spatio-temporelle

C.6. Identification de facteurs de risque de tuberculose bovine en Belgique par analyse de sa dynamique spatio-temporelle

C.6.1. localisation spatiale des troupeaux et foyers

C.6.2. Prédicteurs

C.6.3. Régression logistique multiple à étapes

C.6.3.1. Ensemble des lignées considérées

a) analyse multivariée

b) analyse univariée

C.6.3.2. Lignée VII

a) analyse multivariée

b) analyse univariée

C.6.4. Discussion

- D. Résultats et Discussion**
- E. Conclusions et recommandations**
- F. Liste des déplacements**
- G. Liste des publications éventuelles**
- H. Références bibliographiques**

Annexes :

- 1) **Annexe 1 :** HUMBLET M.-F., WALRAVENS K., SALANDRE O., BOSCHIROLI M. L., GILBERT M., BERKVEN D., FAUVILLE-DUFAUX M., GODFROID J., DUFEY J., RASKIN A., VANHOLME L., SAEGERMAN C. First Questionnaire-Based Assessment of the Intra-Dermal Tuberculosis Skin Test Performed in Cattle by Field Practitioners (Soumis pour publication dans *Veterinary Microbiology*)
- 2) **Annexe 2 :** HUMBLET M.-F., GILBERT M., WALRAVENS K., GOVAERTS M., FAUVILLE-DUFAUX M., SAEGERMAN C. Development of a systematic methodology based on molecular epidemiology to assess risk factors for bovine tuberculosis: the example of Belgium during the 1995 to 2006 period (en redaction)
- 1) **Annexe 3 :** HUMBLET M.-F., BOSCHIROLI M. L., SAEGERMAN C. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle : a stratified approach. *Veterinary Research* 2009, 40: 50- (DOI: 10.1051/vetres/20090033)
- 2) **Annexe 4 :** Liste des prédicteurs
- 3) **Annexe 5 :** Régression Logistique – Analyse univariée dynamique spatio-temporelle de la tuberculose bovine
- 4) **Annexe 6 :** WALRAVENS K., ALLIX C., SUPPLY P., RIGOUTS L., Godfroid J., Govaerts M., Portaels F., Dufey J., Vanholme L., Fauville-Dufaux M., Saegerman C. Dix année d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine en Belgique. *Epidémiol. Et santé anim.* (2006), 49: 103-111
- 5) **Annexe 7 :** abstract de la communication orale présentée aux journées AESA-AEEMA, Paris, Maisons-Alfort, 4-5 juin 2009
- 6) **Annexe 8 :** abstract de la communication orale présentée à la *Fifth International M.bovis Conference*, Wellington, Nouvelle-Zélande, 25-28 août 2009
- 7) **Annexe 9 :** abstract du poster accepté à la conférence annuelle de la '*Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*' (SVEPM), Nantes, 24-26 mars 2010

- 8) **Annexe 10** : abstract de la communication orale présentée à la conférence annuelle de la ‘*Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*’ (SVEPM), Nantes, 24-26 mars 2010

Liste des abréviations

AFSCA	Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
AIS	Anti-inflammatoire stéroïdien
ARSIA	Association Régionale de Santé et d'Identification Animale
Brab.	Brabant
bTB	Tuberculose bovine
bv/BV	Bovin
CERVA	Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques
CV	Cheval
DGZ	<i>Dierengezondheidszorg Vlaanderen vzw</i>
DNF	Division Natures et Forêts de la Région Wallonne
DTM	<i>Digital Terrain Models</i>
FL	Flamand
IC	Intervalle de Confiance
IEV	Institut d'Expertise Vétérinaire
INBO	<i>Instituut voor Natuur- and Bosonderzoek</i>
ITG	<i>Instituut voor Tropische Geneeskunde Antwerpen</i>
LIMS	<i>Laboratory Information Management System</i>
LST	<i>Land Surface Temperature</i>
<i>M. avium</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>M. bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
MIR Temperature	<i>Middle-Infrared Temperature</i>
MT	Mouton
N	Nombre
NDVI	<i>Normalized Difference Vegetation Index</i>
MIRU-VNTR	<i>Variable Number Tandem Repeat</i>
Occ.	Occidental(e)
Or.	Oriental(e)
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SIT	<i>Single Intradermal Tuberculin test (skin test)</i>
TTM	Traitement
UPC	Unité Provinciale de Contrôle
WA	Wallon

Résumé sommaire

La tuberculose bovine à *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) est depuis plusieurs années réduite à l'état de maladie sporadique en Belgique. Malgré l'acquisition d'un statut officiellement indemne depuis 2003, 5 à 10 foyers sont encore enregistrés chaque année. Cette étude avait pour objectif, dans un premier temps, de compiler une base de données reprenant toutes les souches de *M. bovis*. Cette base de données devait servir à la création du modèle d'analyse spatio-temporelle qui permettrait de mieux cerner la dynamique d'infection de la tuberculose bovine en Belgique ainsi que les facteurs de risque éventuels. La base de données reprenant les souches de *M. bovis* était lacunaire en ce qui concerne l'identification des animaux et des troupeaux foyers. Elle a été complétée au moyen de diverses sources : les archives des abattoirs dans lesquels des saisies de carcasses avaient été réalisées pour suspicion de tuberculose bovine, les archives tuberculose de l'AFSCA (archives centrales et des UPC des provinces de Liège, Hainaut, Brabant Wallon, Limbourg et Flandre Occidentale), les cahiers de laboratoires du CERVA et les informations fournies par la DGZ et l'ARSIA Loncin. Le degré de compilation des informations a de la sorte atteint plus de 95%.

Une revue de la littérature a permis d'identifier toute une série de facteurs de risque de tuberculose bovine, tant au niveau de l'individu, du troupeau que de la région/du pays, qui ont servi de base à la sélection de facteurs de risque potentiels à tester en Belgique. La base de données reprenant les souches de *M. bovis* a été utilisée au cours de la seconde phase du projet, en association avec plusieurs bases de données fournies par d'autres organismes officiels tels que l'AFSCA (Sanitel, Tracing des mouvements, inventaires des troupeaux), la DNF et l'INBO (populations sauvages de cerfs, chevreuils, sangliers, daims et mouflons). Elles reprenaient pour la plupart des informations relatives aux facteurs de risque à tester.

Une régression logistique multiple à étapes (Programme R), adaptée d'un modèle britannique ayant évalué l'importance des mouvements dans la transmission de la tuberculose bovine, a été utilisée pour tester les différents facteurs de risque potentiels aux moyens d'analyses multivariées et univariées. Deux approches ont été réalisées : une première considérant toutes les souches isolées en Belgique entre 1995 et 2006, et une seconde considérant uniquement les données relatives aux foyers pour lesquels une ou plusieurs souches de la lignée VII (la plus souvent isolée en Belgique) avaient été isolées. Les principaux facteurs de risque identifiés grâce à cette analyse ont été les suivants : les antécédents de tuberculose bovine dans la zone étudiée, la distance par rapport à un foyer (effet voisinage) et la densité de bovins. D'autres facteurs ont plutôt présenté un effet « protecteur » comme par exemple les zones boisées, les densités de populations sauvages et l'altitude. Ces trois paramètres étaient fort probablement corrélés dans le cas de la Belgique. L'approche ciblant la lignée VII a quant à elle permis de mettre en évidence les proportions de mouvements depuis des zones infectées pendant l'année en cours comme étant à risque. Par ailleurs, une enquête sur les pratiques en matière de tuberculination a été menée auprès de vétérinaires praticiens. Les résultats de cette enquête et de la dynamique spatio-temporelle de la maladie doivent encourager à une harmonisation des pratiques et une sensibilisation des praticiens à l'importance d'une tuberculination correcte tant au niveau des prophylaxies, qu'au moment des tests à l'achat puisque les mouvements à partir de zones infectées sont un risque pour la transmission de la maladie.

A. Introduction Générale – situation de la problématique

La tuberculose bovine à *Mycobacterium bovis* est depuis plusieurs années réduite à l'état de maladie sporadique en Belgique. Le statut indemne de tuberculose bovine a été acquis en 2003 (décision 2003/467/CE de la Commission Européenne), et ce grâce à la mise en place d'un programme d'éradication qui repose notamment sur les tuberculinations de troupeaux, les tuberculinations à l'achat et la détection des lésions à l'abattoir. La prévalence annuelle de troupeaux infectés n'a pas dépassé 0,1% au cours des 6 dernières années (EFSA, 2006). Néanmoins, entre 5 et 10 foyers sont encore notifiés chaque année depuis l'an 2000 (AFSCA, 2007). La situation dans les pays voisins n'est pas meilleure puisque la France a connu l'année dernière une recrudescence du nombre de foyers sur son territoire (EFSA, 2006). Le Royaume-Uni est loin d'être officiellement indemne, et est confronté lui aussi à une augmentation de l'incidence de nouveaux foyers en 2008 (DEFRA, 2009). Cette mycobactérie a été régulièrement isolée parmi plusieurs espèces sauvages (principalement les cervidés, le sanglier et le blaireau), et ce tant en France qu'au Royaume-Uni, en Espagne ou encore en Italie (Cheeseman et al., 1988 ; Serraino et al., 1999 ; Parra et al., 2003 ; Delahay et al., 2007 ; Gortazar et al., 2005 ; Zanella et al., 2008). Nombre de facteurs de risque de bTB ont été identifiés à ce jour, de par le monde, mais la situation en Belgique n'a jamais été évaluée de ce point de vue.

Récemment, la biologie moléculaire a permis de mieux cerner l'épidémiologie de *M. bovis* (Walravens et al., 2006). Trois techniques de typage moléculaire permettent actuellement de caractériser la souche de *M. bovis* responsable de l'infection identifiée dans un foyer. Il s'agit de la RFLP IS6110 (*restriction fragment length polymorphism*), du spoligotyping et du MIRU-VNTR (*Variable number tandem repeat genotyping*).

B. Objectifs de la recherche

Le premier objectif de cette étude consistait en la compilation et la consolidation d'une base de données génotypiques de toutes les souches de *M. bovis* ayant circulé ou étant toujours en circulation en Belgique. La consolidation devait essentiellement être réalisée grâce à la récolte d'informations dans les abattoirs dans lesquels des lésions suspectes de tuberculose bovine avaient été identifiées. Cette base de données devait servir à la deuxième phase du projet, à savoir la création du modèle d'analyse spatio-temporelle qui sera utile pour mieux cerner la dynamique d'infection de la tuberculose bovine en Belgique.

C. Matériels et Méthodes

C.1. Bases de données utilisées dans le cadre du projet

Plusieurs bases de données ont été mises à notre disposition dans le cadre du projet afin de caractériser la dynamique spatio-temporelle de la tuberculose bovine en Belgique.

Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA)

Plusieurs bases de données nous ont été fournies par l'AFSCA, à savoir :

- la liste de tous les troupeaux de Belgique
- l'inventaire des troupeaux bovins (données disponibles : 2000 à 2006)

- le tracing des mouvements de bovins (données disponibles : 1997 à 2006)

Division Nature et Forêt de la Région Wallonne (DNF)

Les statistiques du grand gibier (données disponibles : 2000 à 2006). Il s'agit en fait de l'estimation des populations au printemps de l'année, pour les espèces suivantes : cerfs, chevreuils, daims, mouflons et sangliers. Les données ont été fournies par an et par cantonnement.

Instituut voor Natuur- and Bosonderzoek (INBO) Région Flamande

Une compilation des données concernant les tirs des chevreuils (données disponibles de 1995 à 2006) nous a été fournie, les données étant récoltées au niveau provincial.

Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA)

Une base de données reprenant tous les résultats de typage moléculaire des souches de *M. bovis* qui ont été réalisées majoritairement dans leur laboratoire et accessoirement à l'Institut de Médecine Tropicale (Anvers) et à l'Institut Pasteur au cours de la période qui nous intéresse a été mise à notre disposition. Malheureusement, cette base de données était incomplète : une partie des informations concernant les animaux mais surtout leur troupeau respectif (identification de l'exploitation d'origine) pour lesquels des prélèvements avaient été envoyés était manquante. Une grande partie du travail concernant la validation des données a reposé sur la recherche et le remplissage des données manquantes.

- nom, adresse, CP de l'éleveur ainsi que le numéro de troupeau
- nombre d'animaux ayant fait l'objet d'un prélèvement. Il faut savoir qu'avant 2000, les prélèvements des différents animaux présentant des lésions à l'abattoir étaient rassemblés en pools, et que les analyses étaient réalisées sur un pool entier. A partir de 2000, par contre, les analyses étaient réalisées par animal.
- espèce
- résultats RFLP, Spoligotyping et MIRU-VNTR

Données bioclimatiques

Ces données ont été extraites d'un DVD-Rom joint à l'ouvrage suivant :

HAY S.I., GRAHAM A.J., ROGERS D.J., Editors

Global Mapping of Infectious Diseases (Methods, Examples and Emerging Applications)

Academic Press Editions, London, United Kingdom.

Ce DVD-Rom renferme les données éco-climatiques globales récoltées par satellite, puis traitées par une analyse temporelle de Fourier. Elles couvrent l'entièreté du globe à une résolution spatiale de 1x1km ou 8x8 km. Elles ont été récoltées grâce au « *Remote Sensing* »¹(RS) et à des « *Geographic Information Systems* » (GIS)².

¹ *Remote Sensing* = Télédétection : la mesure ou l'acquisition d'informations sur un objet ou un phénomène, par l'intermédiaire d'un instrument de mesure n'ayant pas de contact avec l'objet étudié

² *Geographic Information Systems* = Système d'Information Géographique (SIG) : outil informatique permettant d'organiser et présenter des données alphanumériques spatialement référencées, ainsi que de produire des plans et des cartes

Association Wallonne de l'Élevage (AWE)

Les données de production laitière de 337 troupeaux inscrits au contrôle laitier (dont les 85 troupeaux ayant été foyer de bTB et 251 troupeaux « sains ») ont été mises à notre disposition pour la période allant de 1995 à 2006. Malheureusement ces données n'ont pas pu être prises en compte car celles concernant la Région Flamande n'ont pas pu être obtenues.

C.2. Livraisons de doses de tuberculines aviaire et bovine

Une base de données reprenant les livraisons des doses de tuberculines aviaire et bovine aux vétérinaires, pour la période comprise entre janvier 2002 et avril 2007 a été rendue accessible dans le cadre du projet. Cette base de données avait été créée sur demande des services vétérinaires en 2001 et est détenue au CERVA. Ce fichier reprend les informations pour chaque livraison de doses à des vétérinaires / institutions de toute la Belgique durant cette période. Une première analyse de cette base de données a permis de mettre en évidence les observations qui suivent. Au total, 4 087 404 doses de tuberculine (N = 3 998 630 doses de tuberculine bovine et N = 88 774 doses de tuberculine aviaire).

C'est en janvier de chaque année que le plus grand nombre de doses de tuberculine bovine est délivré : c'est en fait au cours de cette période de stabulation que les tuberculinations d'étable sont réalisées dans le cadre des campagnes hivernales de prophylaxies.

Les principaux destinataires des livraisons de tuberculines aviaires restent l'AFSCA et les Unités Provinciales de Contrôle, dans le cadre des intradermo-tuberculinations comparatives réalisées lors de réactions positives ou douteuses mises en évidence par les vétérinaires d'exploitation. C'est à l'UPC de Liège que le plus grand nombre de doses de tuberculine aviaire a été délivré entre le 1^{er} janvier 2002 et le 30 avril 2007. Cela pourrait s'expliquer du fait qu'un épisode de tuberculose bovine a été enregistré dans cette province dans les années 1995 – 1996, ainsi qu'en 2001. Un plus grand nombre d'exploitations pourraient toujours faire l'objet d'un suivi si elles ont été déclarées en tant que foyer ou si elles se trouvaient dans le voisinage de foyers.

Si une attention toute particulière est portée à l'approche par circonscription, c'est la 21^{ème} qui présente le plus grand nombre de doses de tuberculine aviaire délivrées. Elle se situe en province de Liège (entités de Flémalle, Loncin, Juprelle, Villers-St-Siméon, Fexhe-Slins, Grâce-Hollogne, Dalhem, Blégny, Saive, Vivegnis, Bassenge, Fraipont, Olne, Aywaille, Awans, Comblain-au-Pont, Louveigné, Herstal, Sprimont et Liège). Une vingtaine de praticiens ont reçu des doses de tuberculine aviaire. Parmi ces derniers, certaines similitudes ont pu être mises en évidence au niveau spatio-temporel, laissant suggérer une interférence de bactéries environnementales dans le dépistage.

Comme nous disposons du nombre de foyers rapportés au cours de l'année qui nous intéresse et du nombre de doses de tuberculine aviaire délivrées, il était intéressant de confronter ces deux paramètres l'un à l'autre (Fig. 1).

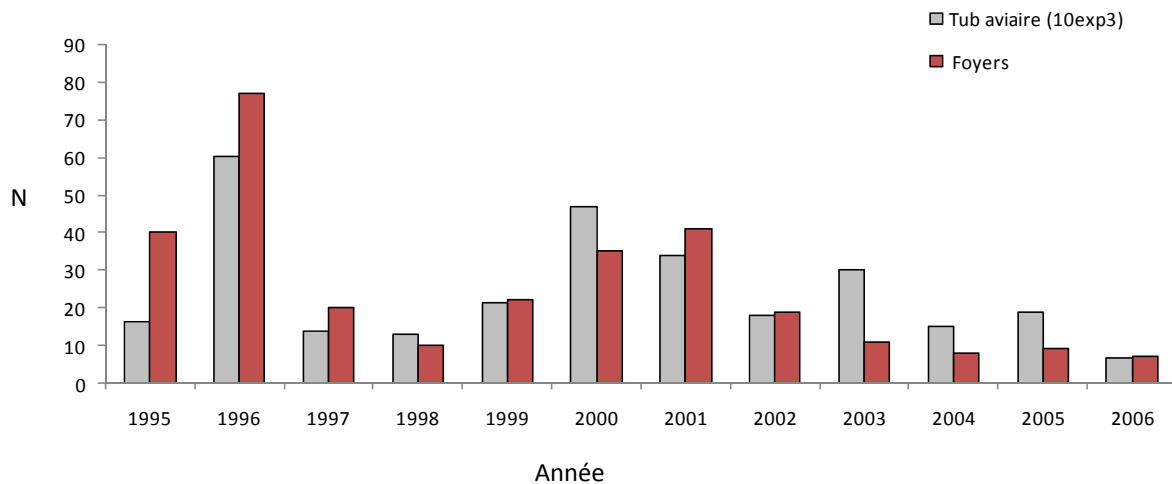


Fig 1 : Evolution du nombre de foyers de bTB en fonction de l'année en parallèle avec le nombre de doses de tuberculine aviaire délivrées (exprimées en $\times 10^3$) ; N = nombre

Cette figure montre une tendance similaire entre le nombre de foyers et le nombre de doses de tuberculine aviaire délivrées au cours du temps. Un test de corrélation de Pearson a permis de mettre en évidence une corrélation entre l'évolution des foyers et des délivrances de tuberculine aviaire ($P = 0,001$).

C.3. Déclarations de lésions pour suspicion de tuberculose dans les abattoirs (période : 1^{er} janvier 1995 – 31 décembre 2005)

Cette base de données compile les statistiques mensuelles de saisies pour suspicion de tuberculose, avec précision du type de lésions présentées (généralisées vs. Localisées), des abattoirs de toute la Belgique (compilation des documents IEV 47 que les abattoirs doivent fournir sur base mensuelle à l'AFSCA). Au total, une cinquantaine d'abattoirs étaient concernés. Le fichier reprend les informations pour les espèces porcine, bovine, ovine et équine. Une approche descriptive de la base de données a permis de mettre en évidence les observations présentées ci-dessous.

C.3.1. APPROCHE GÉNÉRALE (TOUTES ESPÈCES)

Au cours de la période qui nous intéresse, 1888 animaux ont présenté des lésions suspectes à l'abattoir (généralisées ou localisées). Le tableau I ci-dessous reprend les informations par espèce. Les carcasses de porcs ont été le plus souvent signalées comme présentant des lésions suspectes, en majorité localisées. Les bovins adultes ont, quant à eux, présenté le plus grand pourcentage de lésions généralisées.

Espèce	n	Lésions localisées		Lésions généralisées	
		n	%	n	%
Veau	26	21	80,8	5	19,2
BV adulte	639	497	77,8	142	22,2
Porc	1213	1103	90,9	110	9,2
Mouton	9	9	100	0	0
Chevaux	1	0	0	1	100
TOTAL	1888	1630	86,3	258	13,7

Tableau I : Répartition des lésions observées (localisées vs. Généralisées) en fonction de l'espèce, pour la période comprise entre le 01/01/1995 et le 31/12/2005

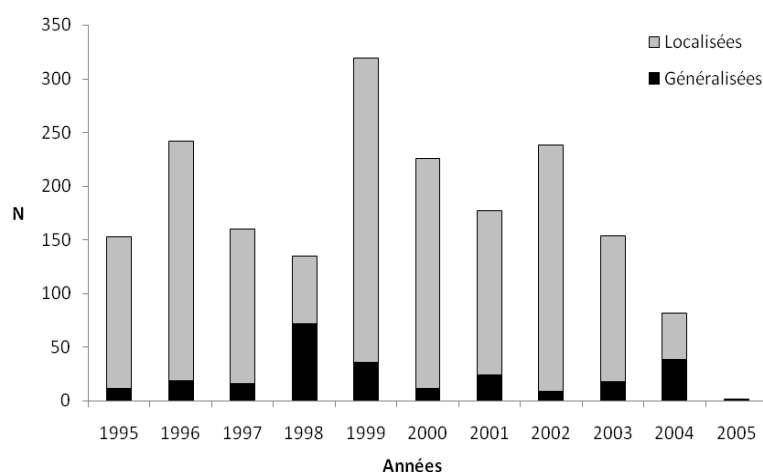


Fig 2 : Nombre total d'animaux ayant présenté des lésions au fil des années, toutes espèces confondues (pic en 1999)

Province	Cercle d'inspection	Abattoir	porcs	BV adultes	veaux	moutons	cheval	
Anvers	Antwerpen	Slachthuis Aartselaar		4				
		Slachthuis Groep Druwel		13	1			
		Slachthuis Swaegers		3				
	Mechelen	Openbaar slachthuis EEG 79		2				
		Slachthuis Appels EEG 48		1				
		Slachthuis Mechelen EEG 160		4				
Turnhout	Geel (Stedelijk)			2				
Brabant Flamand	Asse	Froidmont Michel				9		
		Anderlecht		2				
	Leuven	Bollaerts & Zn		11				
Flandre Occidentale	Brugge	Slachthuis Brugge BVBA		30	1			
		De Rese Roger	64	12			1	
		Vanhoornweder NV EEG SLH	1	16				
	Ieper	Bouckaert N.V.		25				
		Covameat N.V.	2					
		Verbist N.V.		30				
	Kortrijk	De Brauwer N.V.	1007					
		De Coster N.V.	11					
		Goemaere N.V.	62					
		LAR N.V.		4				
		Leieland B.V.B.A.		10				
		Oostrozebeke-Dewulf		70				
	Oostende	Debaillie B.V.B.A.		2				
	Flandre Orientale	Dendermonde	Druwel Groep N.V.		37	1		
Druwel Zele B.V.B.A.				1				
Verhelst N.V.				21				
Willems Slachthuis N.V.				2				
Eeklo		Rijckaert NV		2				
Limbourg	Hasselt	Slachthuis Sint-Truiden		1	1			
		Slachthuisbedrijf Genk	1	1				
		Theys Jos NV		2				
Brabant Wallon Hainaut	Nivelles	Viangros		1				
	Mons	A.I.M.A.C.			2			
		Abattoir Communal d'Ath	50	9				
		Abattoir de Charleroi	2	42				
		Euro Abattoir (bovins)		25				
		Tournai Meat Industrie	4					
Liège	Liège	Demolin		6				
		Gaspar Abattoir S.A.		5				
		Huy Société des Abattoirs de S.C.		5				
		Liège intercommunale abattoirs publics		39				
		Mosbeux Paul		1				
		Nuyts		1				
		Verviers	Abattoir Communal Aubel		122			
			Abattoir Marquet S.A.	4				
	Detry Frères S.A.		4					
		PEGRI Slachthof SPRL		7				
Namur	Namur	Wama Beef		56	18			
Luxembourg	Libramont	Abattoir de Bastogne		12				
		Manuel Penoy		1				
TOTAL = 1888			1213	639	26	9	1	

Tableau II : nombre d'animaux ayant présenté des lésions suspectes en fonction de l'espèce, de la province, du cercle d'inspection et de l'abattoir (période 1995 – 2005)

Le tableau II ci-dessus résume la répartition des saisies en fonction de l'abattoir. Il est intéressant de noter que la majorité des carcasses de porcs saisies l'ont été dans le même abattoir, à savoir De Brauwer N.V., dans le cercle d'inspection de Kortrijk. Ces lésions étaient pour 97,5% localisées, comme l'illustre le tableau III.

Province	Cercle d'inspection	Généralisées		Localisées		Total
		n	%	n	%	
Anvers	Anvers	21	100	0	0	21
	Mechelen	7	100	0	0	7
	Turnhout	1	50	1	50	2
Brabant Flamand	Asse	1	9,1	10	90,9	11
	Leuven	0	0	11	100	11
Flandre Occident.	Bruges	89	71,2	36	28,8	125
	Ieper	3	5,3	54	94,7	57
	Kortrijk	29	2,5	1135	97,5	1164
	Ostende	2	100	0	0	2
Flandre Orientale	Dendermonde	51	82,3	11	17,7	62
	Eeklo	2	66,7	1	33,3	3
Limbourg	Hasselt	6	100	0	0	6
Brabant Wallon	Nivelles	1	100	0	0	1
Hainaut	Mons	7	5,2	128	94,8	135
Liège	Liège	10	17,5	47	82,5	57
	Verviers	24	17,5	113	82,5	137
Luxembourg	Libramont	1	7,7	12	92,3	13
	Namur	3	4,1	71	95,9	74

Tableau III : Répartition des lésions observées, selon le type (localisées vs. généralisées), la province et le cercle, de 1995 à 2005.

Les provinces de Liège et Flandre Occidentale comptabilisent le plus grand nombre de saisies de carcasses de bovins pour cause de lésions localisées. Le cercle de Courtrai a signalé le plus grand nombre de saisies, localisées pour 97,5% d'entre elles.

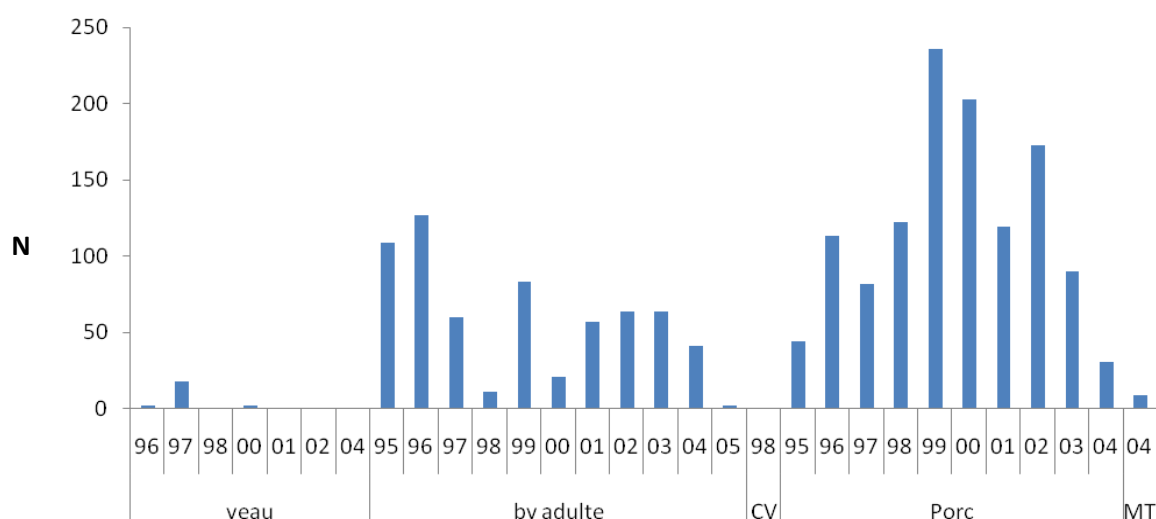


Fig 3 : Nombre total de lésions (localisées et généralisées) en raison de tuberculose en fonction de l'espèce et de l'année (N = 1888) ; bv = bovin ; CV = cheval ; MT = mouton.

L'espèce porcine, la plus représentée, a présenté un pic de déclarations entre 1999 et 2002, comme l'illustre les figures 2 et 3. Le plus grand nombre de bovins adultes saisis l'a été en

1996. Cette observation n'est pas surprenante puisqu'un épisode de tuberculose bovine était en cours à cette période dans la région couvrant le triangle Huy-Hannut-Waremme.

C.3.2. ESPECE PORCINE (N = 1213)

Généralement, les carcasses de porcs ont été saisies suite à l'observation de lésions localisées. Néanmoins, en décembre 1998, davantage de carcasses ont présenté des lésions généralisées (Fig. 4).

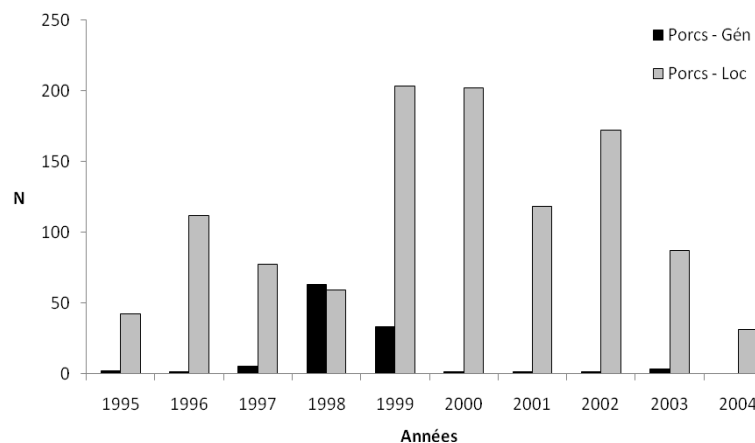


Fig. 4: Distribution des lésions généralisées (Porcs-Gén) vs. Localisées (Porcs-Loc) en fonction de l'année dans l'espèce porcine (N total = 1213)

Ces lésions localisées sont probablement à mettre en relation avec une suspicion de tuberculose à *M. avium*. En effet, aucune analyse n'a été confirmée positive pour *M. bovis* au CERVA dans cette espèce. Il reste néanmoins interpellant que 83% des carcasses saisies l'ont été dans le même abattoir, à savoir DE BRAUWER, cercle de Krotrijk (Fig. 5).

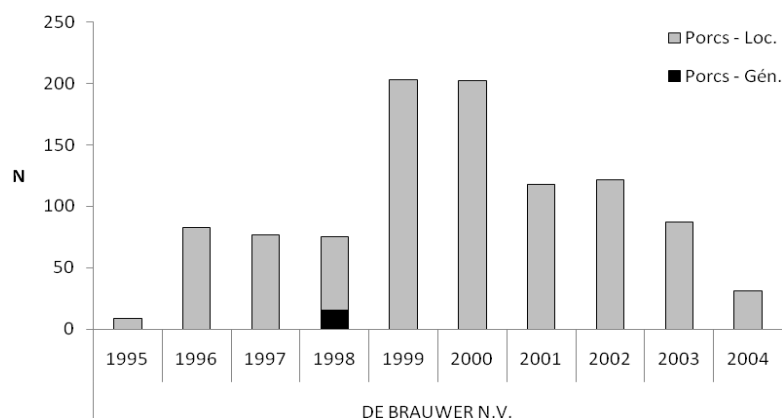


Fig. 5 : Distribution des saisies de carcasses de porcs pour suspicion de tuberculose (lésions généralisées vs. Localisées) en fonction de l'année, à l'abattoir DE BRAUWER N.V. (Flandre Occidentale), principal abattoir dans lequel des saisies ont été opérées dans l'espèce porcine (N = 1007)

C.3.3. ESPECE BOVINE (N = 665)

Veaux (N = 26)

La notion de veau a évolué au cours du temps : avant le 1^{er} janvier 1999, il s'agissait d'animaux âgés de moins de 6 mois, mais depuis lors, le terme « veau » inclut les animaux âgés de moins de 12 mois. La majorité des veaux (N = 18) ont été saisis dans le même abattoir en décembre 1997 : il s'agissait de WAMA BEEF, à Ciney.

Bovins adultes (N = 639)

Les années 1995, mais surtout 1996, sont les années au cours desquelles le plus de carcasses ont été saisies pour suspicion de tuberculose, suite à l'observation de lésions principalement localisées. Des pics de saisies ont également été observés de manière irrégulière : décembre 1997, fin 1999, mars 2002, août 2003 ou encore mai 2004.

En **province de Liège**, c'est l'abattoir d'Aubel qui comptabilise le plus grand nombre de saisies (Fig. 6). La majorité des saisies ont été opérées en décembre 1995 (92,6% des carcasses avec lésions localisées). Un épisode de tuberculose bovine était en cours à cette période dans la région couvrant le triangle Huy-Hannut-Waremme. L'abattoir de Liège a quant à lui signalé le plus grand nombre de saisies (lésions localisées) en mars 2002. Une résurgence de quelques foyers a été observée en 2001 dans la même région.

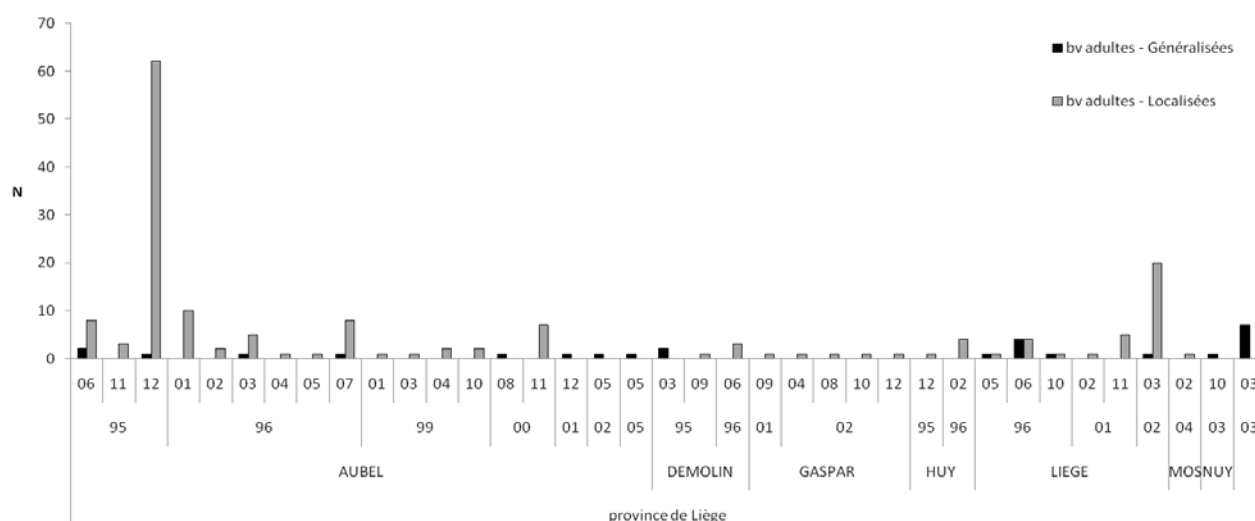


Fig 6 : Nombre de carcasses de bovins adultes ayant présenté des lésions généralisées et localisées dans les abattoirs de la province de Liège, en fonction du mois et de l'année ; n = 186 ; bv = bovin ; MOS = abattoir Paul Mosbeux (Aywaille) ; NUY = abattoir Nuyts (Eupen) ; PEG = Pegri (Saint-Vith) ; DEMOLIN = abattoir de Wandre ; GASPAR = abattoir de Bois-et-Borsu.

En **province de Flandre Occidentale**, un seul abattoir a recensé le plus grand nombre de saisies (lésions localisées) en novembre 1999 (Fig. 7). En décembre 1996, il est intéressant de noter qu'une vingtaine d'animaux ont été saisis pour lésions localisées (Abattoir Bouckaert, à Rumbeke), ce qui correspond à l'épisode de bTB en province de Liège.

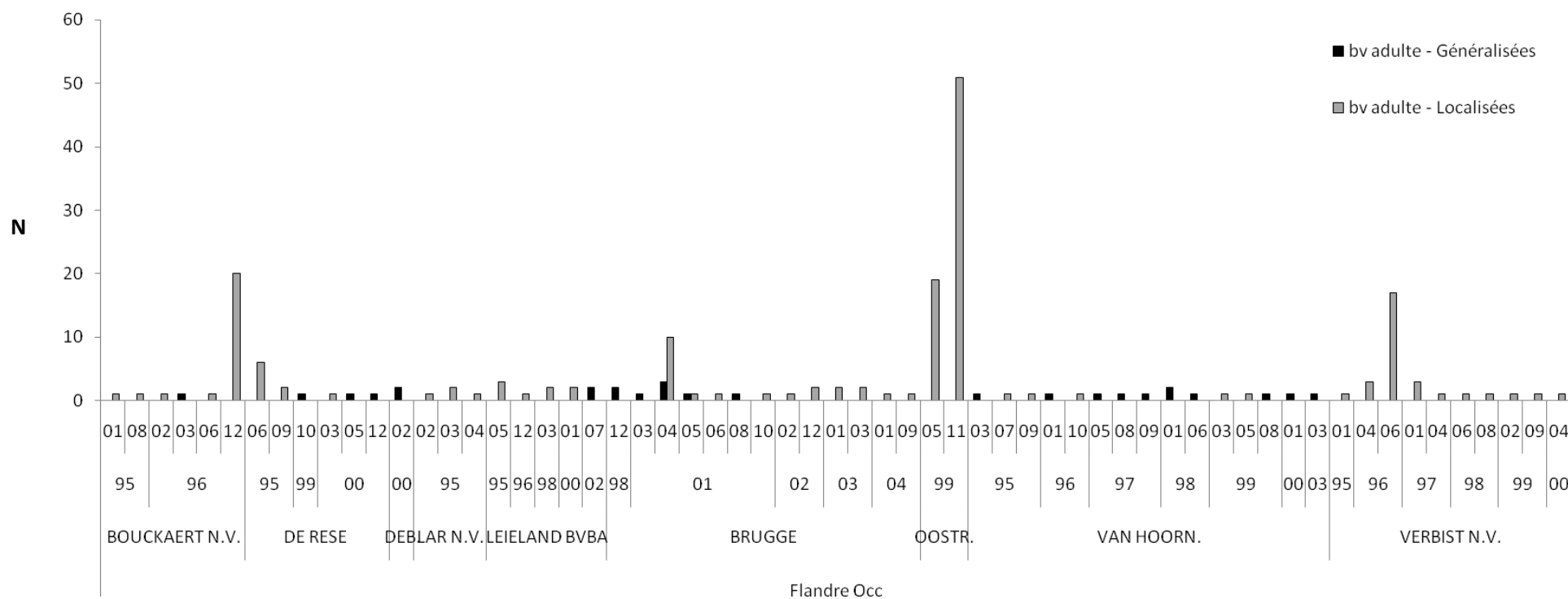


Fig 7 : Nombre de carcasses de bovins adultes ayant présenté des lésions généralisées et localisées dans les abattoirs de la province de Flandre Occidentale, en fonction du mois et de l'année ; n = 199 ; bv = bovin ; BOUCKAERT N.V. = abattoir situé à Rumbeke ; DE RESE = abattoir situé à Zedelgem ; DEB = Debaille (Diksmuide) ; LAR N.V. = situé à Rekkem ; LEIELAND BVBA = situé à Zwevegem ; OOSTR = Oostrozebeke ; VAN HOORN. = situé à Torhout ; VERBIST N.V. = situé à Izegem

En effet, les animaux d'un foyer ne sont pas nécessairement envoyés dans un abattoir de la même province.

En **province de Flandre Orientale**, un abattoir a déclaré plus de 30 saisies en mai 2004, tous ces animaux ayant présenté des lésions généralisées. Il s'agit de DRUWEL GROEP (Zelee), comme le montre la figure 8.

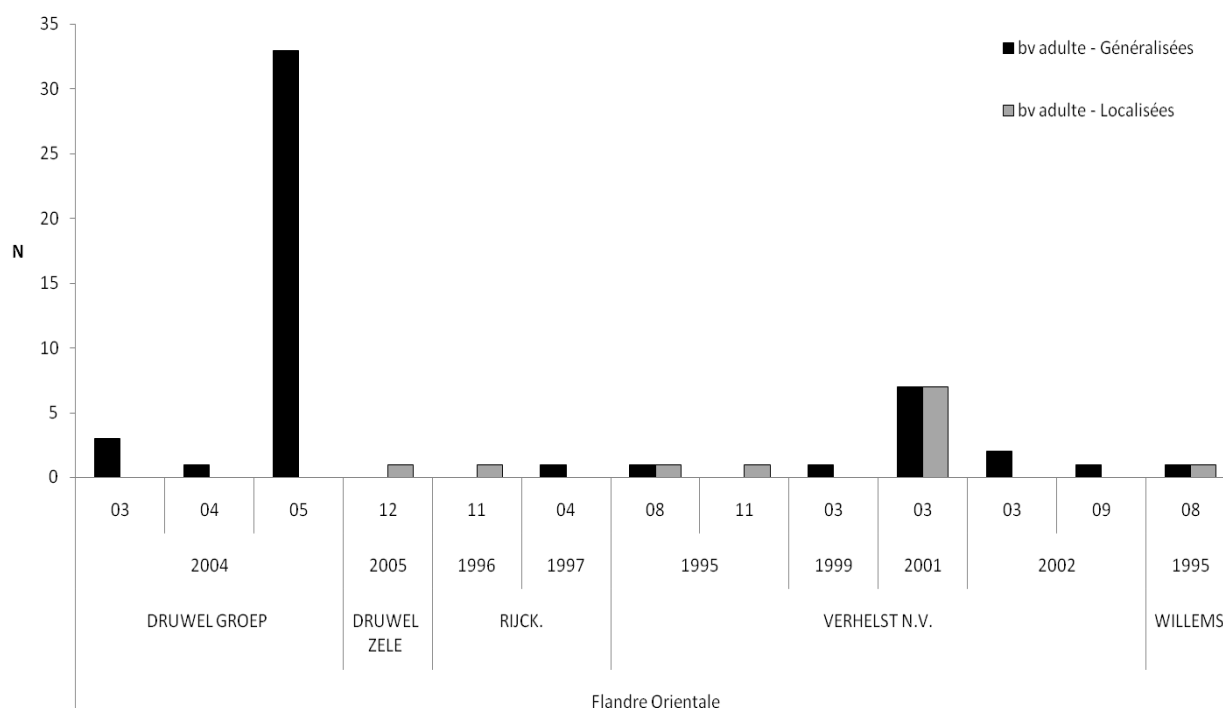


Fig 8 : Nombre de carcasses de bovins adultes ayant présenté des lésions généralisées et localisées dans les abattoirs de la province de Flandre Orientale, en fonction du mois et de l'année ; bv = bovin ; DRUWEL GROEP = situé à Zelee ; RIJCK = abattoir Rijckaert (Eeklo) ; VERHELST NV et WILLEMS = abattoirs situés à Dendermonde

L'abattoir de Charleroi, en **province de Hainaut** a déclaré plus de 40 saisies de bovins adultes (lésions localisées) en août 2008. Il s'agissait probablement d'animaux provenant d'un même foyer.

En **province de Namur**, l'abattoir de Ciney (WAMA BEEF) a déclaré plus d'une quarantaine de carcasses saisies en décembre 1997 (majorité de lésions localisées).

Les abattoirs situés dans les provinces d'Anvers, de Brabant Flamand, Limbourg et Luxembourg ont déclaré très peu de saisies.

La situation varie extrêmement d'un abattoir à l'autre, au sein d'une même province, en ce qui concerne le nombre de saisies et la période au cours de laquelle elles ont été signalées. En région liégeoise, l'abattoir d'Aubel a enregistré une majorité de carcasses saisies en décembre 1995 et janvier 1996. Quelques animaux ont également présenté des lésions en 1999 et 2000, au moment où de nouveaux foyers étaient identifiés. Il s'agissait en fait de la résurgence d'un foyer de l'épisode 1995-1996 qui n'avait pas été assaini de manière

correcte. Ce second épisode a été responsable de saisies à l'abattoir de Liège en 2001 et 2002. De même, à l'abattoir de Bruges, un maximum d'animaux avait été saisi en 2001.

C.3.4. RESUME DES OBSERVATIONS

Les carcasses de porcs sont les plus nombreuses à avoir présenté des lésions, mais le nombre de porcs abattus par an est nettement supérieur au nombre de bovins abattus. Par exemple, en 2007, 11 536 172 porcs ont été abattus contre 495 492 bovins adultes (AFSCA, 2007).

Dans l'espèce bovine, autant que dans l'espèce porcine, il existe une prédominance de lésions localisées. Cette observation pourrait être liée à l'âge des animaux à l'abattage, les animaux abattus à un plus jeune âge n'ayant pas le temps de développer des lésions très sévères, mais cette hypothèse reste à confirmer : en effet, des bovins âgés de 6 mois ont déjà présenté des lésions généralisées à l'abattoir (Walravens K., communication personnelle).

Le fait de mettre en évidence qu'il s'agit de l'abattoir d'Aubel dans lequel le plus d'animaux avec lésions ont été identifiés rejoint l'observation précédente faite pour les années 1995 et 1996, puisque c'est dans la région liégeoise qu'un important épisode de tuberculose bovine a été mis en évidence au cours de ces années. Cet abattoir est agréé pour l'abattage d'animaux provenant de foyers de tuberculose (Arrêté Royal du 17/10/2002 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine).

Une grande disparité existe entre les différents abattoirs, que ce soit concernant le nombre d'animaux saisis ou de la période au cours de laquelle ils ont été saisis.

C .4. Enquête sur l'utilisation des tuberculines par les vétérinaires praticiens

C.4.1. INTRODUCTION

L'analyse de la base de données reprenant les livraisons des doses de tuberculine a suscité pas mal de questions et a été le point de départ d'une enquête épidémiologique anonyme dont le but était de mettre en évidence les pratiques des vétérinaires praticiens en matière de tuberculation. Cette enquête postale a été mise sur pied en octobre 2007. Cette étude avait deux objectifs :

- A) Actualiser les données concernant les méthodes de tuberculation et l'utilisation ainsi que la conservation des doses de tuberculines par les vétérinaires praticiens ruraux. En effet, le mode de conservation peut avoir une influence sur le type de réponse que présente l'animal testé, sous la forme de faux positifs ou de faux négatifs.
- B) Le développement d'une méthodologie utile et originale d'évaluation des méthodes de tuberculation. Le but de cette approche reposait sur l'utilisation éventuelle de cette méthodologie pour comparer les pratiques entre régions d'un même pays ou entre différents pays, afin d'aller vers une harmonisation des pratiques.

C.4.2. MATERIELS ET METHODES

- a. Participation des vétérinaires

Cette étude descriptive transversale, bilingue, a été réalisée dans toute la Belgique. La diffusion de l'enquête a été réalisée dans le courant du mois de novembre 2007 lors des réunions de service. Ces réunions annuelles sont organisées en Wallonie par l'ARSIA et en Flandre par la DGZ avant le début de la campagne hivernale. En collaboration avec l'AFSCA, ces réunions ont pour but de présenter les campagnes de prophylaxies aux vétérinaires praticiens en charge de l'épidémiosurveillance des troupeaux (c'est-à-dire screening pour la détection de la bTB, de la leucose et de la brucellose bovines). La date limite de réponse avait été fixée au 15 décembre 2007. L'enquête a été distribuée aux vétérinaires participant aux réunions (N = 859). Plusieurs réunions se sont tenues dans tout le pays dans le courant du mois de novembre 2007 (une réunion par province, sauf pour le Brabant Wallon, province pour laquelle aucune réunion n'était planifiée. Les vétérinaires praticiens de cette province participent généralement aux réunions organisées dans les autres provinces wallonnes).

b. Questionnaires d'enquête

Le questionnaire, anonyme, se focalisait sur les points suivants:

- profil personnel (commune, provinces dans lesquelles le/la vétérinaire exerce, etc.)
- utilisation et conservation des doses de tuberculine
- protocole d'injection de la tuberculine : préparation du site d'injection, type d'instrument utilisé, délai de lecture de la réponse)
- informations épidémiologiques
- attitude en cas de réponse positive ou douteuse au test de tuberculation
- utilisation de la tuberculine aviaire
- tuberculations à l'achat
- opinion personnelle (besoin de formation continuée, valorisation de l'acte, etc.)

c. Élaboration d'une échelle de scores

Cinq experts internationaux dans le domaine de la bTB ont été sollicités afin de remplir le questionnaire et de donner leur opinion sur ce que seraient les réponses « idéales », « acceptables » et « inacceptables ». Un questionnaire standard a ensuite été réalisé sur base des opinions d'experts. L'échelle de score est décrite comme suit : 0 = réponse idéale, 1 = réponse acceptable et 2 = réponse inacceptable (Tableau V). Un score global a ensuite été calculé pour chaque vétérinaire participant, selon l'échelle de scores décrite ci-dessus. Ce score global était égal à la somme des scores individuels obtenus à chaque élément du questionnaire d'enquête.

d. Pondération des scores d'après le classement des critères par les experts

Les 30 éléments du questionnaire retenus pour l'élaboration de l'échelle de scores ont été classés chronologiquement en 5 catégories :

- 1) Éléments concernant la tuberculine
- 2) Matériel d'injection
- 3) Méthodes
- 4) Tuberculation à l'achat
- 5) Autres (données épidémiologiques)

Comme chaque élément de la procédure ne revêt pas la même importance en matière d'impact sur le risque de non-détection des animaux positifs, il a été demandé à un panel d'experts internationaux dans le domaine de la bTB (N = 11) de classer les 30 paramètres selon cet impact. Ils ont dû répartir 100 points entre les critères : plus le nombre de points attribué est élevé, plus l'impact est élevé. Les points attribués par chaque expert ont été additionnés pour chaque critère, afin d'obtenir un nombre de points total par critère. Un nouveau score pondéré a été recalculé pour chaque vétérinaire : le score obtenu par un vétérinaire pour un critère particulier a été multiplié par le nombre total de points attribué par les experts pour ce paramètre. Un nouveau score global a pu être ré-évalué pour chaque vétérinaire.

e. Analyse statistique

Un coefficient de corrélation de Pearson a été calculé afin d'évaluer l'éventuelle corrélation entre les vétérinaires ayant participé aux réunions et ceux qui ont participé à l'étude (test de représentativité). Les différences étaient considérées comme significativement différentes pour $P \leq 0,05$. La distribution des scores pour les vétérinaires Néerlandophones (FLVT) et Wallons (WAVT) a été réalisée suivant deux scénarios.

- 1) Premier scénario : *imputation directe* : chaque donnée manquante a été remplacée par un score de 2 (pire scénario, presumant que l'absence de réponse signifiait une réponse inacceptable masquée). Dans ce cas, la comparaison entre la distribution des scores globaux (FLVT vs. WAVT) a été établie grâce à une régression de Poisson.
- 2) Aucune imputation de valeur n'a été effectuée pour les données manquantes et le score global était calculé comme étant la moyenne des scores disponibles. Une comparaison du score moyen entre FLVT et WAVT, a été évaluée via une régression utilisant une méthode itérative permettant d'estimer les paramètres d'intérêt sur base d'un échantillonnage avec remise (*Bootstrapped quantile regression distribution*)

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel STATA/SE 10.1 (StataCorp., 2007).

C.4.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

a. Taux de participation

859 vétérinaires ont participé aux réunions organisées par l'ARSIA et la DGZ dans tout le pays. Parmi ces vétérinaires, 18,3% ont rempli le questionnaire et l'ont renvoyé entre le 30 novembre 2007 et le 15 janvier 2008. Lorsque toutes les conditions sont réunies, le taux de réponse observé dans le cadre d'une enquête de ce type varie généralement entre 5 et 25% (Dufour, 1994). Comme l'enquête garantissait l'anonymat, 39 praticiens (24,8% des répondants) ont préféré ne pas préciser la province dans laquelle ils résident. Le taux moyen de réponse était plus élevé en Flandre (N = 111) qu'en Wallonie (N = 46), comme le montre le tableau IV. L'enquête n'a pas été toujours bien acceptée au Sud (biais représenté par la parution d'un article dans la revue du syndicat wallon des vétérinaires et encourageant à une non-participation à l'enquête ; biais intervenu tardivement, aucun impact sur la participation). Néanmoins, une corrélation significative a pu être établie entre le nombre de réponses et le nombre de vétérinaires sollicités par province (coefficient de corrélation de

Pearson de 0,96, avec $P < 0,0001$) ; la participation a été considérée comme représentative. Les données manquantes (entre une et maximum 5) ont été relevées pour 41, 21, 3, 4 et 4 vétérinaires respectivement. Ces données manquantes étaient réparties de manière homogène et proportionnelle entre WAVT et FLVT. Comme l'enquête était anonyme, la région du vétérinaire participant (Flandre vs. Wallonie) était disponible comme information spatiale. Ce facteur a été sélectionné comme facteur comparatif pour la suite du traitement des informations. Le critère de base qui a été choisi pour l'analyse des données par province est celle dans laquelle les praticiens exercent leur activité, car seul un vétérinaire n'a pas répondu ; si un vétérinaire exerçait dans plusieurs provinces, la province d'activités principale a été considérée comme étant la province d'origine.

b. Questionnaires

Le plus grand nombre de participants était originaire de Flandre Occidentale, mais c'est également dans cette province que le plus grand nombre de vétérinaires ont participé à la réunion de service. En moyenne, 15,7% des vétérinaires ayant reçu l'enquête au cours des réunions de service ont participé au Nord, contre 10,5% au Sud. Le taux de réponse est globalement supérieur dans chaque province du Nord du pays. Cependant, une grande corrélation existe entre le nombre de réponses et le nombre de vétérinaires par province, ce qui indique une bonne représentativité de l'enquête (coefficient de corrélation : 0,96 et coefficient de corrélation des rangs de Spearman : 0,96 ; $P < 0,0001$).

Sur les 157 participants à l'enquête, 119 vétérinaires praticiens exercent leur activité professionnelle dans une seule province, 30 exercent dans 2 provinces et 7 vétérinaires pratiquent dans 3 provinces.

Province d'activités principales	N total de vétérinaires d'épidémiosurv. [§]	N total de vétérinaires sollicités par l'enquête	N participants à l'enquête		
			N	%	95% IC [#]
REGION FLAMANDE					
Anvers	119	58	11	19,0	9,9 – 31,4
Brabant Flam.	86	29	5	17,2	5,8 – 35,8
Flandres Occ.	233	226	58	25,7	20,1 – 31,9
Flandres Or.	209	156	25	16,0	10,6 – 22,7
Limbourg	93	48	11	22,9	12,0 – 37,3
Indéterminé	—	—	1	—	—
Total	740	517	111	21,5	18,0 – 25,3
REGION WALLONNE					
Brabant Wall.	41	Pas de réunion	1	—	—
Hainaut	161	100	9	9,0	4,2 – 16,4
Liège	127	60	10	16,7	8,3 – 28,5
Luxembourg	128	70	17	24,3	14,8 – 36,0
Namur	118	112	9	8,0	3,7 – 14,7
Total	575	342	46	13,5	10,0 – 17,5
BELGIQUE	1315	859	157	18,3	15,7 – 21,0

Tableau IV: Distribution des participants à l'enquête en fonction de la province d'activités principaux. N = nombre. * Aucune réunion ne s'est tenue en province de Brabant Wallon. Les vétérinaires de cette province ont participé à aux réunions qui se sont tenues dans les autres provinces Wallonnes. [§] Les données concernant le nombre de vétérinaires ayant un/des contrat(s) d'épidémiosurveillance ont été fournies par l'ARSIA et par la DGZ. [#] Intervalle de confiance (Binomial exact).

Eléments du questionnaire	Score		
	0 (Standard)	1 (acceptable)	2 (non acceptable)
Tuberculine			
1. Méthodes de conservation de la tuberculine	A l'abri de la lumière, 3-8°C	—	Autres réponses
2. Conservation de la tuberculine dans le véhicule	Boîte isotherme 4°C	—	Autres réponses
3. Délai moyen de conservation de la tuberculine dans le véhicule avant utilisation	1 jour	3-5 jours	> 5 jours
4. Utilisation d'une seringue manuelle ou automatique contenant déjà une carpule de tuberculine	Non	Oui	—
5. Utilisation d'un dermojet contenant déjà de la tuberculine	Non	Oui	—
6. Pourcentage d'utilisation des doses de tuberculine	90 to 100%	80 to 89%	< 80%
7. Utilisation de tuberculine aviaire	Jamais	occasionnellement**	Souvent
Matériel			
8. Outil d'injection	Seringue manuelle	Seringue automatique, Dermojet	—
9. Nettoyage/désinfection du matériel d'injection	Nettoyage + Désinf.	Désinf. ou nettoyage	Pas de Désinf. ni nett.
10. Fréquence de nettoyage/désinfection du matériel d'injection	Après chaque exploit.	Une fois par sem.	Moins d'une fois par sem.
11. Fréquence de remplacement de l'aiguille (manual or automatic syringe)	Après chaque exploit; si cassée	Une fois par sem	Autres
12. Fréquence de revision du dermojet	Annuellement	Si défectueux	Autres
Méthode			
13. Site d'injection	Cou	—	Pli caudal, autre
14. Tonte du site d'injection	Oui	Non	—
15. Rasage du site d'injection	—	Oui	Non
16. Utilisation de ciseaux pour couper les poils au niveau du site d'injection	Oui	Non	—
17. Vérification de l'absence de lésion et/ou gonflement au niveau du site d'injection	Oui	—	Non
18. Evaluation du pli de peau avant injection	Cutimètre à ressort	Palpation ou observation visuelle	—
19. Vérification post-injection (présence d'un gonflement de la taille d'un petit pois)	Oui	—	Non
20. Délai moyen de lecture de la réponse	72 heures	—	—
21. Type de lecture de la réponse	Quant. + Qual.; Quant.	Qualitative; palpation	Observation visuelle
Données épidémiologiques			
22. Age minimal auquel les veaux sont tuberculins	6 semaines	< 6 semaines	> 6 semaines
23. SIT si TTM aux AIS	Non *	—	Oui
24. SIT si pneumonie chronique (résistante à un TTM classique)	Oui	—	Non
25. Isolement des positifs et douteux	Oui	—	Non
26. Délai d'avertissement de l'AFSCA	Immédiatement	12 à 24 heures	> 24 heures
SIT à l'achat			
27. SIT systématique à l'achat	Oui	—	Non
28. Vérification systématique de l'identité d'un animal au moment du SIT à l'achat	Oui	—	Non
29. Isolement à l'achat jusqu'à lecture de la réponse	Oui	—	Non
30. Répétition du SIT si animal douteux à l'achat	Oui	Non ‡	—

Tableau V : Table des scores élaborée sur base de l'opinion d'experts (inter)-nationaux (N = 5) ; N = nombre; Désinf. = Désinfection; Nett. = nettoyage ; Quant. = quantitative; Qual. = qualitative; TTM = traitement; SIT = Single Intradermal Test; * le vétérinaire n'est pas toujours prévenu par l'éleveur qu'un animal a été traité; ‡ si envoyé à l'abattoir. ** Un vétérinaire peut occasionnellement utiliser de la tuberculine aviaire sur demande de l'AFSCA suivant le contexte épidémiologique environnemental.

Les principales différences observées entre les pratiques au Nord et au Sud du pays sont présentées dans les tableaux figurant dans l'article en annexe 1. La conservation des doses de tuberculine représentaient un point-clé de l'enquête. Le délai moyen de conservation de la tuberculine dans le véhicule était de 30 jours (1 – 365 jours ; médiane : 15 jours) ; le délai moyen minimal de conservation était d'un jour (<1 jour – 100 jours ; médiane : 1 jour) et le délai moyen maximal de conservation n'a pas été précisé pour 74% des vétérinaires ayant participé à l'enquête. La majorité des vétérinaires utilisent entre 70% et 100% des doses de tuberculine mises à leur disposition. Les vétérinaires utilisant de la tuberculine aviaire, le font dans le cadre d'une tuberculation comparative.

Un délai moyen de 72 heures post-injection est généralement respecté avant la lecture de la réponse (fourchette de 36 à 78 heures). Concernant le type de lecture de la réponse, la majorité des vétérinaires pratiquent la lecture qualitative, à savoir l'observation de signes cliniques d'inflammation tels que l'œdème, l'exsudation, la nécrose, la douleur ou la réaction inflammatoire des vaisseaux et ganglions lymphatiques locaux. La simple palpation du site d'injection entre aussi dans cette catégorie. L'observation visuelle fait également partie du processus de lecture.

La lecture quantitative pratiquée en mesurant l'épaisseur du pli de peau avec un cutimètre à ressort est adoptée par une minorité des vétérinaires, et n'est pas toujours systématiquement appliquée. En pratique, beaucoup de praticiens observent visuellement dans un premier temps puis palpent le site d'injection. En cas de doute, ils mesurent alors la réaction.

Seuls quelques vétérinaires ne réalisent pas le test de tuberculation à l'achat, surtout dans les lots de taurillons à l'engrais, où les animaux arrivent à un âge très jeune (moins de 6 semaines). Les mois d'avril, mai et dans une moindre mesure octobre, ont compté le plus grand nombre de tuberculations réalisées à l'achat. Les vétérinaires recommandent l'isolement des animaux jusqu'à la lecture du résultat du test cutané pratiqué à l'achat mais ils ne sont pas toujours sûrs que cette recommandation est suivie à la lettre par les éleveurs.

c. Questionnaire standard et échelle de scores

AVANT PONDERATION

Tous les éléments du questionnaire n'ont pas été pris en compte pour l'élaboration du questionnaire standard présenté dans le tableau ci-dessus (tableau V). Quelques paramètres moins pertinents ont été écartés dans le but de minimiser le nombre de paramètres nécessaire au calcul du score global. D'autres éléments dont le taux de réponse était très faible n'ont pas été considérés non plus. Au total 30 paramètres ont été finalement sélectionnés pour établir le score de conformité. La distribution des scores globaux avec imputation directe (scénario 1) et le score moyen sans imputation pour les données manquantes (scénario 2) sont présentés dans l'article en annexe 1. D'après le premier scénario, la moyenne des scores globaux pour les FLVT (moyenne : 21,66 ; IC à 95% : 20,80-22,54) et pour les WAVT (moyenne : 21,02 ; IC à 95% : 19,72-22,39) n'étaient pas significativement différents. Concernant le second scénario, les paramètres de distribution du score moyen pour les FLVT (*Bootstrapped quantile regression distribution* ; moyenne : 0,72 ; Percentile 25 : 0,60 ; médiane : 0,70 ; Percentile 75 : 0,83) et pour les WAVT

(*Bootstrapped quantile regression distribution* ; moyenne : 0,70 ; Percentile 25 : 0,57 ; médiane : 0,70 ; Percentile 75 : 0,80) n'ont pas différé significativement non plus.

APRES PONDERATION

Le premier scénario (imputation directe) n'a mis en évidence aucune différence significative entre les scores totaux individuels des praticiens. Il a alors été décidé de comparer les deux régions par groupe de critères (comme définis plus haut). Dans ce cas, les FLVT ont présenté un score global significativement plus élevé pour les deux catégories suivantes : matériel (régression binomiale négative; $P = 0.02$; FLVT: Moyenne = 238.45; IC95% = 222.80-254.10 et WAVT: Moyenne = 200.96; IC95% = 175.78-226.13) et 'autres' (régression binomiale négative; $P = 0.03$; FLVT: Moyenne = 129.93; IC95% = 121.48-138.38 and WAVT: Moyenne = 105.87; IC95% = 91.16-120.58). FLVT ne nettoient ni ne désinfectent le matériel d'injection aussi souvent que les WAVT et ils ne changent pas l'aiguille aussi souvent que les WAVT. Les animaux traités aux AIS sont plus susceptibles d'être tuberculés par les FLVT, et ces derniers sont moins enclins à tuberculer un animal présentant une toux ou une pneumonie chronique résistante à un traitement classique.

Le second scénario (sans imputation) n'a pas non plus mis en évidence de différence significative entre les praticiens des deux régions lorsque les scores globaux individuels étaient comparés. Néanmoins, une différence significative a été observée lorsque les praticiens des deux régions sont comparés au sein de chaque catégorie : les FLVT ont présenté un score significativement plus élevé pour la catégorie « autres » (*Bootstrapped quantile regression distribution*; $P < 0.0001$; FLVT; médiane = 42.44; percentile 25 = 28.0; Percentile 75 = 52.66, et WAVT: médiane = 33.51; percentile 25 = 24.66; percentile 75 = 52.66) tandis que les WAVT ont obtenu un score plus élevé pour la catégorie « lecture de la réponse » (*Bootstrapped quantile regression distribution*; $P = 0.002$; FLVT; médiane = 37.71; percentile 25 = 23.5; percentile 75 = 47.0 and WAVT: médiane = 37.96; percentile 25 = 29; percentile 75 = 43.25). Les FLVT respectent plus volontiers le délai de 72 heures pour la lecture de la réponse.

Des efforts sont encore nécessaires en vue de sensibiliser les vétérinaires à l'importance de la conformité avec l'utilisation du test cutané en tant que test de screening à l'échelle du troupeau. Aucun des participants n'a en effet obtenu un score nul. La même importance a été donnée à chaque élément du questionnaire retenu pour l'élaboration du score : si un des éléments de la chaîne fait défaut, toute la chaîne peut en être affectée. Chaque étape du processus revêt la même importance en termes de conséquences.

La décision de comparer deux régions d'un même pays reposait sur la volonté d'utiliser une telle méthodologie pour comparer la situation entre différentes régions d'un même pays mais également entre pays. Les quelques différences observées entre les deux régions devraient encourager l'harmonisation en termes de pratique du test cutané à l'échelle nationale. L'élaboration d'une méthodologie standard de testage devrait être recommandée aux autorités sanitaires. Il serait intéressant de répéter le même type d'enquête postale dans quelques années, à l'aide de la même méthodologie, en vue de vérifier l'amélioration ainsi que le suivi des recommandations établies sur base du standard. L'étape ultime serait l'implémentation d'investigations multicentriques ayant pour objectif l'évaluation de la situation au niveau Européen, ce qui pourrait mener à une harmonisation des pratiques en

matière de test cutané au sein de la Communauté Européenne et faciliterait le commerce des animaux vivants.

C.5. Récapitulatif des différentes tâches

C.5.1. Tâche 1

a. *Sous-tâches 1 et 2* : typage moléculaire des souches de *M. bovis*

Le typage des souches a été finalisé et les derniers résultats d'analyse MIRU-VNTR ont été fournis par le CERVA en décembre 2008. Ils ont permis de compléter la base de données initiale qui était déjà à notre disposition. Ces derniers typages concernaient principalement les souches plus anciennes (années 1995-1996) qui ont été réalisés sur les échantillons encore disponibles. Une partie des échantillons a d'ailleurs été transmises de l'ITG au CERVA dans ce but.

b. *Sous-tâche 3* : Liaison entre souches et numéros de troupeaux.

Cette étape a été finalisée dans la mesure du possible. En effet, la liaison entre le troupeau et la souche n'a pu être réalisée pour moins d'une dizaine d'exploitations. Dans ce cas précis, aucune identification du troupeau d'origine n'a pu être réalisée.

C.5.2. Tâche 2 : récolte, validation des données nécessaires au projet et création d'une base de données relationnelles et visite de 50 abattoirs

La visite d'abattoir consistait principalement en la consultation des archives concernant la tuberculose bovine. Dans le cadre de ce travail, un maximum d'informations devait être récolté concernant les animaux qui avaient été saisis (partiellement ou totalement) pour suspicion de tuberculose, grâce à la consultation du registre 'tuberculose-leucose-brucellose' dont dispose chaque abattoir. Les données concernant les abattages par ordre ont également été collectées.

Les visites d'abattoirs ont été réalisées entre le 22 mai et le 26 septembre 2007. Ces 50 abattoirs étaient répartis en Wallonie mais surtout en Flandre. Parmi ces abattoirs :

- 8 abattoirs avaient fermé
- 1 abattoir procédait uniquement à l'abattage de moutons
- 7 abattoirs procédaient uniquement à l'abattage de porcs
- 1 abattoir a refusé de donner l'accès aux informations (province d'Anvers)

La quantité d'informations récoltées a varié énormément selon les abattoirs, allant de 0 à 100%. Dans les abattoirs où se pratique un nombre limité d'abattages, les informations ont pu être retrouvées à 100% (ex : Eupen, St-Vith, Chimay, etc.). Par contre, dans les abattoirs connaissant un plus grand débit, moins d'informations ont pu être retrouvées, comme par

exemple à l'abattoir VERBIST (Izegem), l'Euro-Abattoir (Mouscron) ou à l'abattoir communal d'Aubel.

Principaux problèmes rencontrés lors de la recherche de l'information dans les abattoirs :

- Abattoirs fermés
- Archives non disponibles (surtout avant 2000) car la conservation des archives des abattoirs n'est exigée que durant une période de 5 ans
- Archives détruites (incendie)
- Archives non retrouvées suite au changement de vétérinaire responsable administratif de l'abattoir.
- Renvoi à l'Unité Provinciale de Contrôle (sous prétexte que l'information doit s'y trouver)
- Non correspondance entre les statistiques de saisies et les données réellement présentes dans les abattoirs (ex : Charleroi, Aywaille, etc.).
- Manque de collaboration de la part d'une UPC (Anvers)

Comme peu d'informations ont pu être récoltées dans les abattoirs, il a été décidé de chercher d'autres alternatives pour rechercher l'information manquante :

- Consultation des archives tuberculose de l'AFSCA
 - Archives centrales (années 2000 à 2006)
 - Archives des UPC des provinces de Liège, Hainaut, Brabant Wallon, Limbourg et Flandre Occidentale
- Consultation des cahiers de laboratoire du CERVA (les cahiers permettant de compléter les données figurant dans le LIMS)
- Informations fournies et facturées par la DGZ (division Torhout), grâce aux numéros de référence du laboratoire qui figuraient dans le LIMS précité.

Après avoir récolté un maximum d'informations par ces différentes voies, trois cas de figure peuvent se présenter pour le fichier du CERVA :

- Données complétées à 100% (niveau individuel) : numéro de boucle disponible pour chaque bovin
- Données partiellement disponibles (niveau troupeau) :
 - Deux (ou plus) numéros de boucle possibles
 - Hésitation pour 1 chiffre (ou plus) ou chiffre excédentaire

- Numéro de boucle probable (à partir d'une liste d'animaux ayant été envoyés à l'abattoir avec une autorisation de transport dans le cadre d'un abattage sur ordre pour tuberculose).
- Pas de numéro de boucle mais nom de l'éleveur disponible (voire éventuellement numéro de troupeau).

Une fois le fichier complété, le degré de compilation a été calculé (Tableau VI) :

Degré de compilation	Individuel	Troupeau	Total (Ind. + Troup.)
Fichier initial	33,3%	4,2%	37,5%
Après les visites d'abattoirs	36,9%	4,7%	41,6%
Après consultation DGZ	43,2%	5,8%	49,0%
Après consultation des archives de l'AFSCA (Bruxelles) et UPC Liège	57,1%	7,3%	64,4%
Après visites UPC Brab. Wall., Flandre Occidentale et Hainaut	75,0%	0	75,0%
Après consultation cahiers labo + LIMS + archives UPC Liège			80,6%

Tableau VI : Degré de compilation calculé après chaque étape de recherche d'informations (1995 – 2006)

Si l'année 1994 n'est pas considérée, le degré de compilation total (1995 – 2006) s'élève à 80,6%. Le degré de compilation total (individuel + troupeau) est très bas pour les années 1995 et 1996. La Figure 9 représente le degré de compilation sous forme d'un histogramme cumulé lorsqu'à la fois les données disponibles individuellement ainsi que celles disponibles à l'échelle du troupeau sont considérées. Le degré de compilation atteint 80,6%, si la période de 1995 à 2006 est considérée en totalité. Le tableau VII représente le degré de compilation des informations pour chaque année de la période à étudier.

Année	N total de données	Animal		Troupeau		Animal + Troupeau	
		N	%	N	%	N	%
1994	29	1	3,4	5	17,2	6	20,6
1995	145	70	48,3	10	6,9	76	55,2
1996	412	197	47,8	9	2,2	207	50,0
1997	121	86	71,1	32	26,4	118	97,5
1998	44	37	84,1	0	0	37	84,1
1999	77	75	97,4	2	2,6	76	100
2000	171	139	81,3	23	13,5	162	94,8
2001	132	131	99,2	0	0	131	99,2
2002	148	147	99,3	1	0,7	148	100
2003	77	77	100	0	0	77	100
2004	43	43	100	0	0	43	100
2005	51	51	100	0	0	51	100
2006	148	77	52,0	58	39,2	135	91,2
TOTAL	1598	1131	70,8	140	8,8	1271	79,5
TOTAL sans 1994	1569	1130	72,0	135	8,6	1265	80,6

Tableau VII : Degré de compilation en fonction de l'année (données reprises selon l'année)

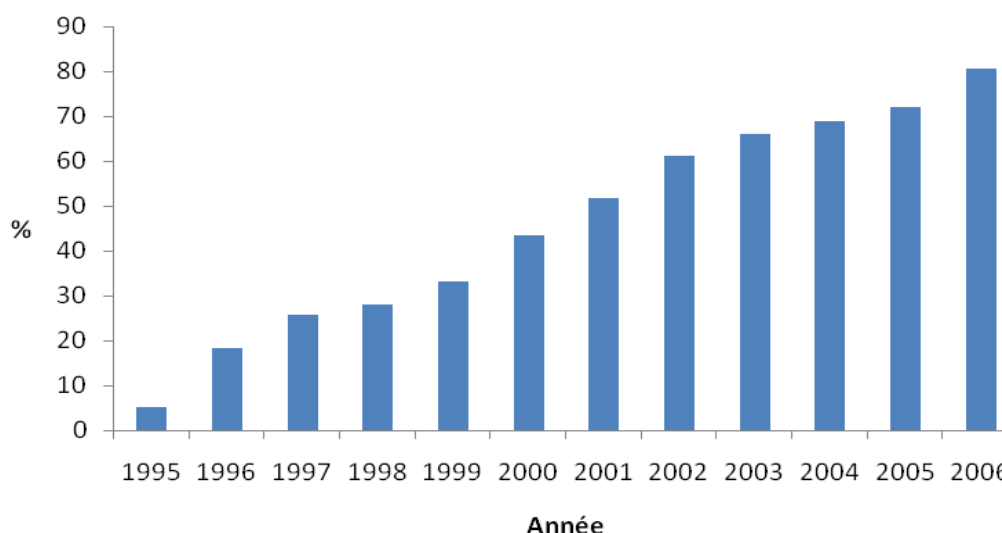


Fig 9 : degré de compilation cumulé au fur et à mesure des années (information animal + troupeau)

La consultation des archives de l'AFSCA (centrale de Bruxelles + UPC des provinces de Liège, Hainaut, Brabant Wallon, Limbourg et Flandre Occidentale) a permis de pouvoir associer un numéro de troupeau à une souche. Il a donc été finalement décidé de travailler à l'échelle du troupeau.

Malgré le degré de complétude plus faible si les années 1995 et 1996 étaient considérées, nous les avons néanmoins prises en compte, car le nombre de foyers observés au cours de ces deux années était significativement plus élevé qu'au cours des années ultérieures.

Période	Total	Animaux		Troupeau		Animal + Troupeau	
1997 – 2006	1012	863	85,0	116	11,6	979	96,8
1998 – 2006	891	777	87,1	84	9,4	861	96,6
1999 – 2006	847	740	87,2	84	9,9	824	97,3
2000 – 2006	770	665	86,2	82	10,6	747	97,0
2001 – 2006	599	526	87,8	59	9,8	585	97,7

Tableau VIII : Degrés de compilation calculés en fonction de diverses périodes considérées

C.5.3. Tâche 3 : choix d'une unité de temps et d'une unité d'espace pertinentes

Plusieurs unités de temps (mois, années) et d'espace (exploitation, commune, circonscription) ont été évaluées. Le faible nombre de cas par rapport à la population à risque a eu un effet majeur sur le choix de ces unités. L'unité de temps retenue est l'année car si une unité de temps plus courte était considérée, un problème pouvait se présenter pour les données éco-climatiques, à savoir la saisonnalité.

Concernant l'unité d'espace, c'est l'exploitation qui a été retenue, vu le nombre important de données manquantes au niveau individuel.

C.5.4. Tâche 4 : identification d'indicateurs ou de facteurs de risque de tuberculose bovine

Une revue très complète de la littérature a permis d'identifier toute une série de facteurs de risque. Un article de revue a d'ailleurs été rédigé à ce propos. Il est annexé au présent

rapport également (annexe 2). Trois niveaux ont été distingués dans cette approche : l'animal, le troupeau et la région/ le pays. Ci-dessous un résumé des principaux facteurs de risque relevés. L'article de revue est annexé au présent rapport.

1. Facteurs de risque à l'échelle de l'individu
 - 1.1. Age
 - 1.2. Genre
 - 1.3. Race
 - 1.4. Etat d'embonpoint
 - 1.5. Statut immunitaire
 - 1.6. Résistance et sensibilité génétiques à la bTB
 - 1.7. Transmission verticale and pseudo-verticale
 - 1.8. Auto-contamination
2. Facteurs de risque à l'échelle du troupeau
 - 2.1. Antécédents de bTB dans le troupeau ou de cas de tuberculose humaine dans l'entourage du troupeau
 - 2.2. Taille du troupeau
 - 2.3. Spéculation (bovins laitiers vs. allaitants)
 - 2.4. Management
 - 2.4.1. Management intensif et hébergement des animaux
 - 2.4.2. Lisier
 - 2.4.3. Alimentation, complémentation et stockage des aliments
 - 2.4.4. Transmission entre bovins via la voie faeco-orale
 - 2.5. Manque de performance des tests diagnostics
 - 2.6. Fréquence d'application du test intradermique à la tuberculine (diminution des chances de détection des animaux réactifs)
 - 2.7. Contacts réduits entre éleveurs et services vétérinaires
 - 2.8. Introduction d'un animal dans un troupeau: achat
 - 2.9. Mouvements d'animaux
 - 2.10. Contacts entre animaux
 - 2.11. Taux d'abattage
 - 2.12. Autres espèces domestiques
 - 2.13. Faune sauvage
 - 2.14. Persistance de *M. bovis* dans l'environnement et influence du climat
3. Facteurs de risque à l'échelle de la Région/du pays
 - 3.1. Prévalence de la bTB et antécédents de bTB dans la région/le pays en question
 - 3.2. Contiguïté avec d'autres troupeaux faisant l'objet de restrictions pour cause de bTB
 - 3.3. Commerce international et mouvements transfrontaliers des bovins
 - 3.4. Immigration – mondialisation

C.5.5. Tâche 5 : analyse spatio-temporelle (voir point C.6)

C.6. Identification de facteurs de risque de tuberculose bovine en Belgique par analyse de sa dynamique spatio-temporelle

C.6.1. Localisation spatiale des troupeaux et foyers

Un premier traitement des données a été indispensable afin de les convertir en un format pour lequel le modèle pourrait être appliqué. Il s'agissait dans un premier temps d'établir la répartition spatiale des exploitations et des foyers afin de pouvoir les localiser dans les pixels définis.

Toute la superficie de la Belgique a été, pour ce faire, divisée en pixels de 5kmx5km. Tout le territoire de la Belgique a dans un premier temps été inscrit dans un rectangle dont les limites étaient fixées par les coordonnées Lambert X et Y minimales et maximales (<http://www.ngi.be/gdoc/viewer.htm>).

X minimal = 22 000

X maximal = 295 000

Y minimal = 21 000

Y maximal = 245 000

Pour une question de facilité, nous avons débuté à X = 20 000 et Y = 20 000.

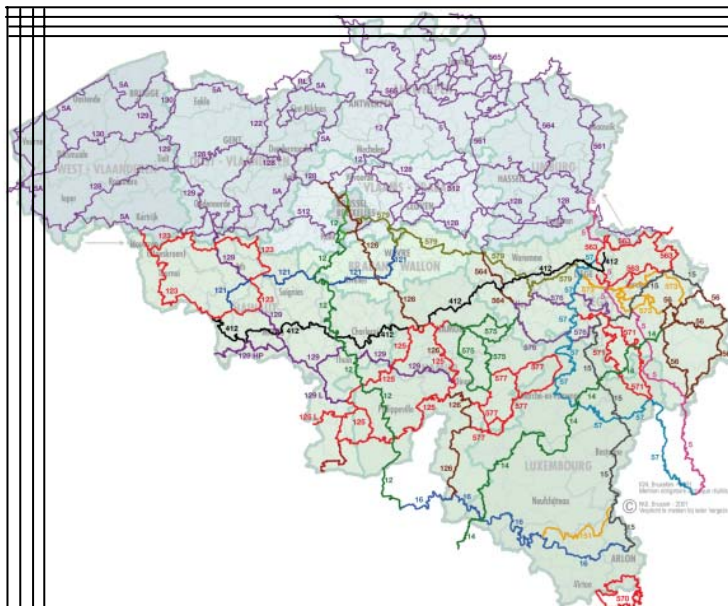
Les coordonnées du centre du pixel ont été retenues comme identifiant pour le pixel en question, sous la forme d'un multiple des 5 km le plus proche

Exemple : un troupeau dont les coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 143 676 et Y = 35 989 appartiendra au pixel X145Y35

Un total de 2576 pixels de 5km x 5km a été défini.

X = 22 000
Y = 245 000



X = 295 000
Y = 245 000

X = 22 000
Y = 21 000

X = 295 000
Y = 21 000

Fig 10 : pixélisation de la Belgique (Carte source : <http://www.grsentiers.org/grcarte.htm>)

Les pixels identifiés comme ne faisant pas partie du territoire de la Belgique ne seront pas pris en compte pour le reste de l'analyse vu qu'il n'y aura pas de données pour ces pixels.

Les foyers de bTB repris dans le fichier fourni par le CERVA ont été localisés dans un pixel grâce au numéro de troupeau, en faisant un recoupement avec le fichier troupeau fourni par l'AFSCA. Environ 40% de l'information était manquante pour les troupeaux, et donc une imputation a été effectuée de la manière suivante : le code postal a permis d'appliquer les coordonnées X et Y du centre de la commune. De cette manière, chaque troupeau et chaque foyer a reçu un identifiant pixel en fonction de son appartenance à ce pixel. Une recherche des coordonnées Lambert X et Y a été opérée pour les exploitations dont le code postal et l'adresse étaient disponibles.

C.6.2. Prédicteurs

La consultation de la littérature concernant les facteurs de risque de bTB a permis d'identifier une série de paramètres pouvant être considérés comme facteurs de risque ici en Belgique. Ces paramètres ont été qualifiés de prédicteurs. Différents prédicteurs ont été isolés à partir des différentes bases de données décrites au point C.1. Ils ont été repris afin de construire le fichier final permettant de procéder à l'analyse des données. L'élaboration d'une nouvelle base de données reprenant ces différentes informations a été une étape primordiale. Au total, 49 prédicteurs ont été considérés (liste en annexe 3):

- **Présence de bTB** dans un pixel donné l'année antérieure
- **Distance par rapport au centre d'un pixel infecté** (effet voisinage)
- **Densités de certaines population de la Faune sauvage** : les populations sauvages considérées dans le cadre de l'analyse sont les suivantes : chevreuils, cerfs et sangliers. Nous disposons de certaines données pour les mouflons et les daims, mais il s'agit la plupart du temps d'animaux en captivité, et leur répartition est très localisée. Les données nous ont été fournies sur base du cantonnement en Région Wallonne, et sur base provinciale pour la Région Flamande. Afin de pouvoir obtenir la densité de ces différentes espèces par pixel, un calcul simple a été réalisé en fonction de la surface forestière du pixel et de la densité en animaux par cantonnement/province. Ce calcul a permis d'obtenir une information quant à la densité de gibier potentiel par pixel. Le cantonnement peut être comparé à un polygone, avec n individus de l'espèce sauvage considérée par km² de forêt. Dans un carré de 5 km de côté, la densité de forêt est calculée puis la densité d'individus également, et l'on obtient un nombre d'individus par pixel.
- **Données éco-climatiques** : ces données ont été extraites du CD-Rom pour être directement incluses dans l'analyse. Les informations fournies par cette voie ont été récoltées par télédétection (*remote sensing*) grâce à un satellite. Ce sont les variables climatiques traditionnelles pertinentes dans la transmission de maladies vectorielles. Elles sont fournies avec une résolution spatiale de 8x8 km. Trois catégories de prédicteurs éco-climatiques ont été considérés. Il s'agit de :

- **MIR temperature** = température mesurée par infra-rouge (°C)
- **LST** = température à la surface de la terre
- **NDVI** = Indice de végétation par différence normalisée. Il est apparenté à la fraction du rayonnement photosynthétiquement actif, et se calcule à partir des réflectances mesurées dans les bandes visible et proche infrarouge. La chlorophylle (pigment vert) absorbe le rayonnement incident de la partie visible du spectre électromagnétique, alors que la structure des feuilles et la teneur en eau sont responsables des valeurs élevées de la réflectance dans le proche infrarouge. L'NDVI est en corrélation avec divers paramètres, notamment la quantité, la productivité et la biomasse de la végétation.

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R)$$

NIR est la réflexion dans la bande proche infra-rouge

R est la réflexion dans la bande rouge visible.

Les valeurs négatives de NDVI (valeurs proches de -1) correspondent à des zones arides (roche, sable ou neige). Des valeurs proches de zéro (-0,1 à 0,1) correspondent généralement à l'eau. Enfin, les valeurs faiblement positives représentent les arbustes et prairies (environ 0,2 à 0,4) tandis que les valeurs élevées indiquent des zones de forêts tempérées et tropicales humides (valeurs proches de 1).

Différentes informations ont été enregistrées pour ces 3 paramètres, à savoir :

- *Mean middle-infrared (MIR) temperature* (°C) = température moyenne en °C (mesurée par infra-rouge)
- *MIR annual amplitude* (°C) = amplitude moyenne annuelle de la température
- *MIR bi-annual amplitude* (°C) = amplitude moyenne bi-annuelle de la température
- *Minimum MIR* (°C) = température moyenne minimale
- *Maximum MIR* (°C) = température moyenne maximale
- *MIR phase of annual cycle (months)* = phase de cycle annuel de la température
- *MIR phase of bi-annual cycle (months)* = phase de cycle bi-annuel de la température
- *Mean Land surface temperature (LST)* (°C) = température moyenne à la surface du sol
- *LST annual amplitude* (°C) = amplitude annuelle de la température à la surface du sol
- *LST bi-annual amplitude* (°C) = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre
- *Minimum LST* = température minimale à la surface de la terre
- *Maximum LST* = température maximale à la surface de la terre
- *LST phase of annual cycle (months)* = phase de cycle annuel de la température à la surface de la terre (mois)

- *LST phase of bi-annual cycle (months)* = phase de cycle bi-annuel de la température à la surface de la terre (mois)
- *Mean normalized difference vegetation index (NDVI)* = Indice de végétation par différence normalisée moyen (pas d'unité)
- *NDVI annual amplitude* = amplitude annuelle de l'indice de végétation par différence normalisée
- *NDVI bi-annual amplitude* = amplitude bi-annuelle de l'indice de végétation par différence normalisée
- *Minimum NDVI* = indice minimal de végétation par différence normalisée
- *Maxium NDVI* = indice maximal de végétation par différence normalisée
- *NDVI phase of annual cycle* = phase de cycle annuel de l'indice de végétation par différence normalisée
- *NDVI phase of bi-annual cycle* = phase de cycle bi-annuel de l'indice de végétation par différence normalisée
- DTM = altitude

Un tableau détaillé reprenant tous les prédictors se trouve en annexe 3.

- **Occupation des sols** : ces données ont été extraites également. Il s'agit des données relatives à l'occupation du sol (« *Landcover* »), exprimées en pourcentage d'occupation du pixel:

- pâtures
- cultures
- eau
- forêts
- zones urbaines
- autre végétation
- longueur des lisières (contacts forêts/pâtures)

Les variables représentant la **persistance de la maladie** (antécédents de bTB) ont été ajoutées aux prédictors, y compris le nombre de pixels infectés l'année précédente dans un rayon de 5 km autour du point d'échantillonnage.

- **Mouvements** d'animaux ont été répertoriés à partir du pixel de départ (pixel_from) vers le pixel d'arrivée (pixel_to). Ces mouvements ont été calculés par pixel et par an (la date arrêtée étant le 31 décembre). Ces données mouvement ont été ajoutées à la liste des prédictors. Ces variables incluent le nombre total de mouvements dans une cellule, le nombre total de mouvements à partir de pixels infectés et la proportion de mouvements qui ont leur origine dans un pixel infecté.

- Un autre prédictor important est la **densité de bovins** par pixel et par an. Cette donnée a pu être obtenue de manière fiable à partir de l'année 2000. En effet, c'est à partir de cette même année que nous disposons d'un fichier reprenant les inventaires annuels pour tous les troupeaux bovins enregistrés. Diverses requêtes effectuées grâce au logiciel Microsoft Access, nous avons pu obtenir le nombre de mouvements entrant et sortant pour chaque pixel par an.

C.6.3. Régression logistique multiple à étapes

La base de données finalisée reprenant d'une part l'identification des pixels, l'absence ou présence de bTB (0-1) en fonction de l'année ainsi que tous les prédicteurs considérés a été transformé en fichier SPSS avant son intégration dans le logiciel R qui a été utilisé pour effectuer la régression logistique qui nous permettra de vérifier l'impact de différents prédicteurs sur l'apparition de foyers de bTB dans un pixel donné. Le modèle utilisé a été élaboré précédemment par un partenaire du projet DYNATUB, à savoir l'Ing. Marius Gilbert, Lutte biologique et éco-spatiale, ULB, dans le cadre d'un modèle appliqué en Grande-Bretagne (Gilbert et al., 2005). Le modèle a été adapté pour son utilisation avec les données belges.

L'association entre la présence de bTB et les prédicteurs a été vérifiée grâce à une régression logistique multiple par étapes. Les données des différents prédicteurs ont été extraites pour les différents pixels couvrant la totalité du territoire.

Deux types d'approches ont été menées. La première consistait en une régression logistique multiple par étapes, qui prenait en compte toutes les souches isolées en Belgique au cours de la période qui nous intéresse (1995 – 2006). La seconde approche ciblait plutôt la lignée VII, qui est la lignée reprenant les souches le plus souvent isolées en Belgique (Walravens et al., 2006). Pour les 2 approches, une analyse multivariée a été réalisée dans un premier temps, suivie par une analyse univariée. Les résultats de ces deux approches sont présentés ci-dessous.

C.6.3.1. Toutes lignées considérées

a) analyse multivariée

Il n'était pas possible dans un premier temps de tester les 49 variables en même temps car beaucoup d'entre elles étaient corrélées. Il a donc été décidé de tester chaque famille de prédicteurs séparément. En effet, les variables corrélées s'excluent l'une l'autre. Par exemple, la densité de chevreuils était corrélée à la surface de forêt par pixel. Le modèle a été forcé avec les prédicteurs les plus susceptibles de montrer un effet significatif sur base épidémiologique, à savoir la présence de bTB dans le pixel l'année précédente (PBTB), la distance par rapport au centre d'un pixel infecté (Logtb5kmNoI) (le risque augmente de manière inversement proportionnelle à la distance par rapport au pixel infecté ; vérification de l'effet « voisinage ») et la densité d'animaux (BOV03). Concernant la densité d'animaux, c'est l'année 2003 qui a présenté l'effet le plus significatif, et c'est donc ce paramètre qui a été retenu pour être testé. Ces trois prédicteurs ont donc été systématiquement testés en même temps que les autres prédicteurs. Par ailleurs, d'autres prédicteurs ont montré un impact significatif sur la présence de bTB.

PBTB + Logtb5kmNoI

L'antécédent de bTB dans un pixel ainsi que la distance par rapport au centre d'un pixel infecté sont deux facteurs ayant présenté un effet fortement significatif, comme l'illustre le tableau ci-dessous.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.1618	0.2023	10.684	< 2e-16 ***
Logtb5kmNol	-2.3682	0.2290	-10.343	< 2e-16 ***

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté (plus l'estimation est négative, plus le risque diminue lorsqu'on s'éloigne du centre du pixel).

PBTB + Logtb5kmNol + BOV03

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.0708656	0.2032527	10.189	< 2e-16 ***
Logtb5kmNol	-2.2286674	0.2306585	-9.662	< 2e-16 ***
BOV03	0.0002091	0.0000361	5.791	7.01e-09 ***

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003

La densité d'animaux par pixel en 2003 (BOV03) s'est également avérée être un facteur de risque significatif pour la présence de bTB dans un pixel donné.

Mouvements d'animaux

Mouvements au cours de l'année précédente :

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.071e+00	2.033e-01	10.190	< 2e-16 ***
Logtb5kmNol	-2.228e+00	2.308e-01	-9.655	< 2e-16 ***
BOV03	2.094e-04	4.180e-05	5.011	5.42e-07 ***
nNB	1.224e-05	2.284e-04	0.054	0.957
iNB	-2.563e-05	4.487e-04	-0.057	0.954
pNB	1.751e-01	5.711e-01	0.307	0.759

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; nNB = nombre de mouvements entrants totaux au cours de l'année précédente ; iNB = nombre de mouvements depuis le pixel au cours de l'année précédente ; pNB = nombre de mouvements entrants potentiellement infectieux au cours de l'année précédente.

Mouvements de l'année en cours :

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.072e+00	2.033e-01	10.190	< 2e-16 ***
Logtb5kmNol	-2.228e+00	2.307e-01	-9.660	< 2e-16 ***
BOV03	2.145e-04	4.310e-05	4.977	6.47e-07 ***
oNB	1.694e-05	2.055e-04	0.082	0.934
jNB	-4.620e-05	4.060e-04	-0.114	0.909
qNB	1.692e-01	6.043e-01	0.280	0.779

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; oNB = nombre de mouvements entrants totaux pendant l'année en cours ; jNB = nombre de mouvements depuis le pixel pendant l'année en cours ; qNB = nombre de mouvements entrants potentiellement infectieux pendant l'année en cours.

Dans un premier temps, la distance par rapport au centre d'un pixel infecté (Logtb5kmNol) a été testée sans PBTB car elle présente une meilleure prédictabilité. Cet effet voisinage assez

proche n'est pas lié à des mouvements sur de grandes distances. De plus le script a été modifié afin d'exclure la distance d'un pixel par rapport à lui-même. Logtb5kmNol et PBTB ont été testés simultanément également.

Aucun effet significatif des mouvements à partir d'un pixel infecté au cours de l'année antérieure ni pendant l'année en cours n'a été mis en évidence. Les deux tableaux ci-dessus illustrent la non-significativité des mouvements s'étant produits l'année précédente et ceux de l'année en cours.

Faune sauvage :

Nous avons testé toutes les variables « faune sauvage » ensemble (sangliers + chevreuils + cerfs + daims + mouflons), puis nous avons conservé uniquement celles qui étaient significatives. Il s'agit d'une approche descendante. Les variables « prévalence en TB l'année précédente », Logtb5kmNol et densité de bovins en 2003 étaient par contre systématiquement testées à chaque étape à cause de leur effet fortement significatif.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2,059e+00	2,025 ^e -01	10,169	< 2e-16***
Logtb5kmNol	-2,035 ^e +00	2,387 ^e -01	-8,522	< 2e-16***
BOV03	1,975 ^e -04	3,608 ^e -05	5,474	4,41 ^e -08***
CERFS	-3,985 ^e -02	1,467 ^e -02	-2,716	0,006617**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; CERFS = densité en cerfs par pixel

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2,048e+00	2,027e-01	10,102	< 2e-16***
Logtb5kmNol	-2,045 ^e +00	2,391 ^e -01	-8,552	< 2e-16***
BOV03	2,021 ^e -04	3,818 ^e -05	5,292	1,21 ^e -07***
CHEV	-7,058 ^e -03	2,314 ^e -03	-3,050	0,00229**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; CHEV = densité en chevreuils par pixel

Prédicteurs d'occupation du sol :

De même que pour les variables « faune sauvage », nous avons testé les prédicteurs d'occupation du sol tous ensemble, à savoir : pâtures + cultures + zones humides + forêts + zones urbaines + autre végétation + longueur des lisières (contacts forêts/pâtures). Une approche descendante a été appliquée : à chaque test des variables, celle présentant la valeur de z la plus faible (avec effet non significatif) était supprimée, et les variables restantes étaient testées à nouveau. Au final, nous n'avons conservé que la variable ayant présenté un effet significatif, comme présenté dans le tableau ci-dessous.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2,040 e+00	2,026 e-01	10,073	< 2e-16***
Logtb5kmNoI	-1,929 e+00	2,442 e-01	-7,900	2,80 e-15***
BOV03	1,933 e-04	3,813 e-05	5,068	4,01 e-07***
FORKM2	-9,887 e-02	2,613 e-02	-3,784	0,000154***

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNoI = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; FORKM2 = pourcentage de la surface du pixel occupé par les forêts

Prédicteurs éco-climatiques et altitude :

Une approche descendante a également été appliquée pour les prédicteurs éco-climatiques et l'altitude. Nous avons testé les prédicteurs de cette famille tous ensemble. Une liste détaillée est présentée en annexe 3, mais les catégories de prédicteurs étaient les suivantes : température mesurée par infra-rouge, la température à la surface du sol, l'indice de végétation par différence normalisée et l'altitude. A chaque étape, le prédicteur présentant un effet non significatif et la valeur de z la plus faible était éliminé, et les variables restantes étaient testées à nouveau. Au final, nous n'avons conservé que les variables ayant présenté un effet significatif (tableau ci-dessous).

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1,996 e+00	2,048 e-01	9,747	< 2e-16 ***
Logtb5kmNoI	-1,847 e+00	2,490 e-01	-7,419	1,18 e-13***
BOV03	2,352 e-04	3,786 e-05	6,213	5,19 e-10***
CH0107A1	4,202 e-02	9,909 e-03	4,241	2,23 e-05***
CH0107A2	-2,166 e-02	1,001 e-02	-2,164	0,030494*
CH0114P1	-5,942 e-03	1,700 e-03	-3,496	0,000472***
DTM	-2,204 e-03	7,034 e-04	-3,133	0,001732**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNoI = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; CH0107A1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0107A2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0114P1 = phase de cycle annuel de l'Indice de végétation par différence normalisée ; DTM = altitude

En résumé, plusieurs paramètres ont été mis en évidence comme ayant un impact significatif sur la présence de bTB dans un pixel au cours de l'année ultérieure. Il s'agit de:

- La présence de bTB dans le pixel l'année antérieure
- La distance par rapport au centre d'un pixel infecté (le risque augmente de manière inversement proportionnelle à la distance par rapport au pixel infecté) = voisinage. Plus un pixel se situe près d'un pixel infecté, plus le risque de devenir infecté augmente.
- La densité de bovins par pixel en 2003
- L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre (LST) (°C)

Par contre certains prédicteurs ont montré une corrélation négative:

- Pourcentage de surface du pixel occupé par les forêts
- Les densités de chevreuils et de cerfs (plus celles-ci augmentent, plus le risque diminue).
- Une tendance à la diminution des pixels infectés au cours des années, sur l'étendue de toute la période (CYear)
- L'amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre (LST) (°C)
- L'index de différence de végétation normalisée moyen (NDVI), phase de cycle annuel
- L'altitude

Au final, un modèle combinant tous les prédictors ayant présenté un effet significatif lorsqu'ils étaient testés par famille a été appliqué. Il apparaît que certains prédictors ne montrent plus du tout un effet significatif. Il s'agit des densités de chevreuils, de cervidés, le pourcentage de surface occupé par les forêts et l'altitude. Ces prédictors sont en fait fortement corrélés entre eux. En effet, les zones forestières ici en Belgique sont également celles dont l'altitude est la plus élevée, et celles qui comptent les plus grandes densités de gibier sauvage.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1.978e+00	2.050e-01	9,650	< 2e-16 ***
Logtb5kmNoI	-1.801e+00	2.497e-01	-7.213	5.48e-13 ***
BOV03	2.284e-04	3.855e-05	5.926	3.11e-09 ***
CHEV	2.205e-03	5.507e-03	0.400	0.688828
CERF	-1.044e-02	1.988e-02	-0.525	0.599500
FORKM2	-6.515e-02	7.395e-02	-0.881	0.378362
CH0107A1	3.630e-02	1.093e-02	3.322	0.000892 ***
CH0107A2	-2.135e-02	1.036e-02	-2.061	0.039292 *
CH0114P1	-5.094e-03	1.867e-03	-2.729	0.006352 **
DTM	-1.282e-03	8.819e-04	-1.454	0.145924

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNoI = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV03 = densité de bovins par pixel pour l'année 2003 ; CHEV = densité en chevreuils par pixel ; CERFS = densité en cerfs par pixel ; FORKM2 = pourcentage de la surface du pixel occupé par les forêts ; CH0107A1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0107A2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0114P1 = phase de cycle annuel de l'Indice de végétation par différence normalisée ; DTM = altitude

b) analyse univariée

L'approche univariée a été utilisée en utilisant le modèle « PBTB et/ou Logtb5kmNoI et densité de bovins » avec chaque prédictor pris individuellement. Elle est le résultat de la sélection descendante de l'analyse multivariée. Les résultats obtenus sont présentés à l'annexe 4.

Dans le cadre de l'approche univariée, plusieurs prédictors ont montré un effet significatif sur le risque de bTB. Il s'agit :

- La présence de bTB dans le pixel l'année antérieure
- La distance par rapport au centre d'un pixel infecté (le risque augmente de manière inversement proportionnelle à la distance par rapport au pixel infecté) = voisinage. Plus un pixel se situe près d'un pixel infecté, plus le risque de devenir infecté augmente.
- La densité de bovins par pixel en 2003
- la surface occupée par les cultures et terres arables par pixel
- L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre

D'autres prédictors ont de nouveau montré une corrélation négative:

- pourcentage d'un pixel occupé par les forêts
- les densités de chevreuils, de cerfs et de sangliers : plus celles-ci augmentent, plus le risque diminue.
- CYear : diminution de l'incidence au cours des années

- L'amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre (LST) (°C)
- L'index de différence de végétation normalisée moyen (NDVI), phase de cycle annuel
- L'altitude ($P < 0,05$)

C.6.3.2 Lignée VII

a) Analyse multivariée

Seuls les foyers pour lesquels des souches appartenant à la lignée VII ont été considérés dans cette approche. La même considération que dans l'approche incluant toutes les lignées est de vigueur. Les prédicteurs ont été testés par famille.

PBTB et Logtb5kmNol

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.0134	0.3923	5.132	2.86e-07 ***
Logtb5kmNol	-3.2453	0.3537	-9.176	< 2e-16 ***

* = $P < 0,05$, ** = $P < 0,01$ et *** = $P < 0,001$; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté

La distance par rapport au centre d'un pixel infecté s'est également avérée être un facteur de risque pour l'apparition de bTB. Ce prédicteur a été testé systématiquement avec les autres familles de variables également.

Densité de bovins par an

Aucun effet significatif n'a été mis en évidence pour la densité de bovins par pixel, contrairement à ce qui avait été observé lorsque toutes les lignées sont considérées.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2.019e+00	3.911e-01	5.163	2.43e-07 ***
Logtb5kmNol	-3.230e+00	3.528e-01	-9.155	< 2e-16 ***
BOV00	-1.080e-04	1.554e-04	-0.695	0.487
BOV01	6.386e-04	6.007e-04	1.063	0.288
BOV02	-3.596e-04	6.106e-04	-0.589	0.556
BOV03	1.049e-04	7.307e-04	0.144	0.886
BOV04	3.240e-05	7.168e-04	0.045	0.964
BOV05	1.597e-05	1.154e-04	0.138	0.890
BOV06	-2.433e-04	5.283e-04	-0.461	0.645

* = $P < 0,05$, ** = $P < 0,01$ et *** = $P < 0,001$; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; BOV0X = densité de bovins par pixel pour l'année en question

Mouvements

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	2,0699	0,3976	5,206	1,93 e-07***
Logtb5kmNol	-3,3059	0,3534	-9,355	<2 e-16***
qNB	1,7932	0,6607	2,714	0,00665**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; qNB = nombre de mouvements entrants potentiellement infectieux pendant l'année en cours

Lorsque l'influence des mouvements de l'année précédente et de l'année en cours est investiguée, il apparaît que le nombre de mouvements entrants potentiellement infectieux pendant l'année en cours présente un risque significatif sur l'apparition de bTB dans un pixel donné (tableau ci-dessus)

Faune sauvage

Une approche descendante a été appliquée à savoir, tester dans un premier temps tous les prédicteurs de la famille, puis éliminer progressivement ceux n'ayant pas présenté un effet significatif, et dont la valeur de z est la plus faible.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1,993832	0,393928	5,061	4,16 e-07***
Logtb5kmNol	-3,075425	0,357769	-8,596	<2 e-16***
CHEV	-0,010778	0,004339	-2,484	0,013*

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; CHEV = densité en chevreuils par pixel

Données d'occupation du sol

Toutes les variables de cette famille ont été testées ensemble dans le cadre d'une approche descendante : celle présentant un effet non significatif et la valeur de z la plus faible était progressivement éliminée, les variables restantes étant testées ensemble, jusqu'à ce qu'il ne reste que les variables à effet significatif.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1,81541	0,40398	4,494	7,00 e-06***
Logtb5kmNol	-2,94091	0,36520	-8,053	8,09 e-16***
CROPKM2	0,08612	0,02782	3,096	0,001961**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; CROPKM2 = pourcentage de la surface du pixel occupé par les cultures et terres arables

Prédicteurs éco-climatiques

La liste complète de tous les prédicteurs de cette catégorie se trouve en annexe 3, mais il est utile de rappeler que les principales catégories de ces prédicteurs, à savoir: la température mesurée par infrarouge, la température à la surface du sol, l'indice de végétation par différence normalisée et l'altitude. Une approche descendante a été appliquée comme précédemment expliqué.

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1,680129	0,406202	4,136	3,53 e-05***
Logtb5kmNol	-2,806953	0,371871	-7,548	4,41 e-14***
CH0107A1	0,053690	0,018834	2,851	0,00436**
CH0107A2	-0,059615	0,022151	-2,691	0,00712**
CH0114P1	-0,009562	0,003118	-3,067	0,00216**

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; CH0107A1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0107A2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0114P1 = phase de cycle annuel de l'Indice de végétation par différence normalisée

Après avoir testé toutes les variables de cette famille de prédicteurs, seuls ont été conservés dans le tableau ci-dessus celles ayant présenté un effet significatif.

Lorsque seules les souches de la lignée VII sont considérées, les prédicteurs suivants présentent un effet significatif (risque) :

- La présence de bTB dans le pixel l'année antérieure
- La distance par rapport au centre d'un pixel infecté
- La proportion de mouvements depuis des pixels infectés pendant l'année en cours
- La surface de cultures et terres arables
- L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre (°C)

Les prédicteurs suivants ont présenté une corrélation négative :

- Densité en chevreuils par pixel (P<0,05)
- Amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre (°C)
- Index de différence de végétation normalisée moyen, phase de cycle annuel

La densité de bovins par pixel, et le CYear ne présentent plus d'effet significatif, contrairement à ce qui était observé lorsque toutes les lignées étaient considérées en même temps.

Au final, un modèle combinant tous les prédicteurs ayant présenté un effet significatif lorsqu'ils étaient testés par famille a été appliqué ; le résultat est le suivant :

Prédicteur	Estimation	Erreur std	Valeur de z	Degré signific. (P)
PBTB	1.665550	0.420790	3.958	7.55e-05 ***
Logtb5kmNol	-2.729520	0.381493	-7.155	8.38e-13 ***
qNB	1.856831	0.705736	2.631	0.00851 **
CHEV	-0.006700	0.005178	-1.294	0.19569
CROPKM2	0.029300	0.024411	1.200	0.23003
CH0107A1	0.038892	0.020954	1.856	0.06345
CH0107A2	-0.059532	0.021977	-2.709	0.00675 **
CH0114P1	-0.005458	0.003630	-1.504	0.13269

* = P<0,05, ** = P<0,01 et *** = P<0,001 ; PBTB = présence de bTB dans le pixel l'année précédente ; Logtb5kmNol = logarithme de la distance par rapport au centre du pixel infecté ; qNB = nombre de mouvements entrants potentiellement infectieux pendant l'année en cours ; CHEV = densité en chevreuils par pixel ; CHEV = densité en chevreuils par pixel ; CH0107A1 = amplitude annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0107A2 = amplitude bi-annuelle de la température à la surface de la terre ; CH0114P1 = phase de cycle annuel de l'Indice de végétation par différence normalisée

Similairement à la première approche pour laquelle toutes les souches étaient considérées, certains prédicteurs s'excluent l'un l'autre car ils sont corrélés entre eux.

b) Analyse univariée

L'approche univariée a été utilisée en utilisant le modèle alpha (PBTB ou Logtb5kmNol) avec chaque prédicteur pris individuellement. Elle est le résultat de la sélection descendante de l'analyse multivariée. Les résultats sont présentés dans l'annexe 4.

L'analyse univariée a révélé l'effet significatif d'un risque pour certains prédicteurs :

- La densité des bovins en 2001 (si PBTB + Logtb5kmNol sont testés en même temps)
- La proportion de mouvements depuis les pixels infectés pendant l'année en cours
- La surface des cultures et terres arables par pixel
- La température moyenne par infra-rouge, phase de cycle annuel
- La température moyenne par infra-rouge minimale (si Logtb5kmNol est testé seul)

D'autres prédicteurs ont démontré une corrélation négative:

- La surface d'un pixel occupée par les zones boisées
- La longueur des lisières
- La densité de chevreuils par pixel
- L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre bi-annuelle
- L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre, phase de cycle annuel
- L'index de différence de végétation normalisée, phase de cycle annuel

D. Résultats et Discussion

L'analyse de ces bases de données a permis de mettre en évidence la pertinence de certains paramètres en tant que facteurs de risque de bTB. C'est la première étude de ce genre ici en Belgique qui a permis d'identifier de tels facteurs. Une première approche a tenu compte de l'ensemble des souches dont les résultats de typage moléculaire avaient permis de classer dans une des 12 lignées identifiées à ce jour. La seconde approche a uniquement pris en compte les souches appartenant à la lignée VII, souches les plus souvent isolées ici en Belgique au cours de ces 13 dernières années (Walravens et al., 2006, annexe 5).

La **présence de bTB** dans un pixel donné au cours de l'année antérieure à celle considérée s'est avérée un facteur de risque important, tant au niveau de l'analyse multivariée qu'au niveau de l'analyse univariée, et ce, pour les deux approches. Cette observation rejoint celles de scientifiques étrangers ayant identifié ce facteur dans d'autres pays du monde. L'incidence de bTB dans une zone est en effet susceptible d'être liée aux antécédents de bTB dans cette région en particulier (pour une revue, voir Humblet et al., 2009). Des scientifiques anglais ont démontré que des foyers de bTB surgissent de manière répétée dans les mêmes régions (White et Benhin, 2004). Il est fort envisageable que la source de contamination n'ait pas été éradiquée et/ou que des facteurs permanents rendent certaines régions particulièrement propices à une ré-émergence de l'infection.

La **distance par rapport à un pixel infecté** s'est avérée être un facteur de risque également, dans les deux approches. Plus la distance par rapport au pixel infecté augmente, plus le risque diminue. Ce phénomène a été mis en évidence dans d'autres régions du monde comme par exemple en République d'Irlande (Griffin et al, 1996). Ces scientifiques ont

démontré que sur une courte période, les foyers de bTB affectaient le plus souvent plusieurs troupeaux en même temps plutôt qu'un seul, car la contiguïté avec d'autres troupeaux faisant l'objet de restriction pour cause de bTB était un facteur de risque. Une autre étude menée en Irlande, ayant inclus 215 troupeaux laitiers a montré que le voisinage avec un troupeau foyer de bTB était associé à un foyer dans un troupeau particulier. Néanmoins, des foyers confirmés dans des troupeaux adjacents pourraient indiquer une source d'infection commune (Denny et Wilesmith, 1999). Des scientifiques Nord-Américains ont mis en évidence l'importance des contacts entre animaux au niveau des clôtures en tant que risque particulier de transmission de *M. bovis* entre animaux infectés et animaux sains (Kaneene et al, 2002, Munroe et al., 1999).

La **densité d'animaux** par pixel est un autre facteur de risque avéré, comme déjà démontré dans d'autres régions. Dans notre étude, ce prédicteur a été identifié dans la première approche, et l'effet significatif était le plus marqué lorsque les densités de bovins en 2003 étaient considérées. Par contre, lorsque seule la lignée VII était considérée, ce paramètre n'a présenté qu'un effet légèrement significatif en 2001. L'élevage intensif représente un risque par lui-même de par la plus grande proximité des animaux et donc un accroissement des contacts et interactions entre eux. Plus la densité d'animaux augmente, plus les contacts rapprochés sont probables. Comme la forme que revêt la maladie chez les bovins est souvent respiratoire, le risque d'infection d'animaux sains par des gouttelettes contaminées émises par des bovins infectés et excréteurs est d'autant plus important. La plus grande incidence de bTB est généralement observée dans les régions où les élevages intensifs sont nombreux (Cosivi et al, 1998). La filière laitière suit une tendance à l'intensification dans nos régions, allant vers moins d'exploitations mais plus grandes, ce qui implique des contacts accrus entre les animaux et donc un risque plus important de transmission de la bTB (Thoen et al, 2006). Dans ces systèmes intensifs, la transmission aérogène de *M. bovis* domine (Menzies et Neill, 2000).

Contrairement à ce qui a déjà été observé ailleurs, les **mouvements** d'animaux depuis un foyer vers une autre exploitation n'ont pas été révélés comme facteur de risque dans cette étude, lorsque toutes les souches étaient considérées. Le faible nombre de foyers observés chaque année n'a peut-être pas permis de mettre en évidence ce facteur de risque ici en Belgique, contrairement aux travaux de Gilbert et al menés en Grande-Bretagne (Gilbert et al, 2005). Une étude ayant analysé les mouvements de bovins entre 1985 et 2003 en Grande-Bretagne a fait appel au typage moléculaire pour identifier les mouvements d'animaux comme étant en grande partie responsables de la plupart des foyers enregistrés dans le Nord-Est de l'Angleterre entre 2002 et 2004 (Gopal et al 2006). Ces mouvements d'animaux ont un impact majeur si les animaux sont déplacés depuis une zone endémique vers une zone indemne. La seconde approche n'impliquant que la lignée VII a par contre permis de mettre en évidence que les proportions de mouvements depuis les pixels infectés pendant l'année en cours étaient significativement à risque, et ce, tant au niveau de l'analyse multivariée qu'univariée.

Plusieurs **espèces sauvages** ont à ce jour été fortement suspectées de jouer un rôle non négligeable dans la transmission de la tuberculose à *M. bovis* aux bovins domestiques. C'est le cas du blaireau au Royaume-Uni et en République d'Irlande (Cheeseman et al, 1988 ;

Denny et Wilesmith 1999 ; Griffin et al, 1993) et du phalanger volant en Nouvelle-Zélande (Morris et Pfeiffer, 1995). Des cervidés infectés par *M. bovis* ont été identifiés en Amérique du Nord (Kaneene et al, 2002), au Royaume-Uni (Delahay et al, 2001 et 2007), en Irlande (Quigley et al, 1997), en Espagne (Aranaz et al, 1996) ou encore en France (Zanella et al, 2008). *Mycobacterium bovis* a souvent été isolé chez le sanglier en Europe occidentale et plus particulièrement en France, en Espagne et en Italie (Parra et al, 2003 ; Serraino et al, 1999 ; Zanella et al, 2008). Dans notre étude, néanmoins, aucune relation n'a pu être mise en évidence entre les espèces sauvages étudiées, à savoir les chevreuils, les cerfs et les sangliers (et accessoirement les daims et mouflons, plutôt présents sur notre territoire dans les parcs et élevages domestiques) et la présence de bTB. Au contraire, il semblerait qu'une grande densité de ces populations sauvages représente un « facteur de protection ». Le même effet a pu être mis en évidence pour les zones boisées. Il est plus que probable que ces deux paramètres, à savoir populations sauvages et zones boisées, soient corrélés.

Les approches multivariée et univariée de la lignée VII, ainsi que l'approche univariée de toutes les souches ont mis en évidence que les **zones de cultures et de terres arables** représentaient un risque significatif. La concentration des exploitations autour des zones de cultures de fourrages pourrait être une explication.

Certains **facteurs éco-climatiques** se sont avérés présenter un risque significatif pour l'apparition de bTB. L'amplitude annuelle de la température à la surface de la terre serait un facteur de risque, comme démontré par les deux approches. Le climat influence la survie des bacilles de *M. bovis* dans l'environnement (Phillips et al, 2003). La durée de survie de *M. bovis* dans l'environnement serait inversement proportionnelle aux températures moyennes journalières, comme l'ont suggéré des scientifiques Néo-Zélandais (Jackson et al, 1995). Des températures légèrement au-dessus de 0°C accompagnées d'une forte hygrométrie sont favorables à la survie de *M. bovis* (Artois et al, 2004). Ces caractéristiques sont souvent observées dans nos régions en période hivernale. En 1997, des scientifiques ayant travaillé sur des données recueillies en Angleterre et au Pays de Galle ont suggéré que l'apparition de bTB était liée à la saisonnalité et aux changements climatiques d'une année à l'autre (Wint et al, 2002).

L'**altitude** a montré un effet protecteur significatif. Il semblerait que plus l'altitude augmente, plus le risque diminue. Les régions les plus élevées du pays se situent dans le sud et à l'est, régions dans lesquelles très peu voire aucun foyers n'ont été identifiés à ce jour. Cet effet protecteur pourrait éventuellement être mis en relation avec les zones boisées, qui se trouvent principalement dans les mêmes régions. L'influence du climat n'est pas à négliger non plus, le climat étant plus « rude » (températures plus basses en hiver) à des altitudes plus élevées par exemple. Certaines études ont étudié la résistance de *M. bovis* dans l'environnement. Des températures juste au-dessus des 0°C et une hygrométrie importante sont favorables à la survie de *M. bovis* (Artois et al., 2004).

Un autre élément intéressant a été mis en évidence, à savoir une tendance à la diminution du nombre de pixels infectés au cours des années, sur toute la période étudiée. Cette observation a été réalisée grâce à la première approche, incluant toutes les souches, par les analyses multivariée et univariée.

E. Conclusions et Recommandations

Une base de données génotypiques de toutes les souches de *M. bovis* ayant circulé ou étant toujours en circulation en Belgique a été clôturée grâce au typage par les 3 méthodes disponibles actuellement.

La revue de la littérature ayant abouti à la rédaction d'un article de revue concernant les facteurs de risque de bTB a été réalisée : elle a constitué une base pour l'identification des facteurs de risque pertinents en Belgique qui ont été testés dans l'approche statistique.

La récolte d'informations concernant l'identification des animaux et/ou des troupeaux est passée par plusieurs étapes, les informations étant disséminées dans les abattoirs, à l'AFSCA et au CERVA. Il serait intéressant de centraliser les informations de manière plus efficace.

Les déclarations de lésions de bTB dans les abattoirs étaient fort variables d'une région à l'autre, et même d'un abattoir à l'autre. Une évaluation des méthodes de dépistage dans les abattoirs pourrait être mise sur pied, dans le but ultime d'harmoniser le dépistage.

L'enquête sur l'utilisation des tuberculines et les pratiques de tuberculation menée auprès des vétérinaires a permis de mettre en évidence certaines lacunes et mauvaises pratiques en matière de tuberculinations. L'évaluation des méthodes de tuberculation basée sur l'élaboration d'une échelle de scores et l'avis d'experts n'a jamais été proposée auparavant. Des efforts sont nécessaires pour sensibiliser les vétérinaires praticiens à l'importance du respect des règles et de la législation en matière de tuberculinations. Certaines différences ont été observées entre les deux régions du pays, ce qui devrait encourager une harmonisation des pratiques au niveau national. L'enquête pourrait être réalisée à l'échelle internationale afin d'aller vers une harmonisation des pratiques. Pour ce faire, une méthodologie standardisée de testage, liée aux facteurs de risque de bTB pourrait être mise à disposition des praticiens par l'intermédiaire des autorités sanitaires. Il serait alors intéressant de répéter l'enquête dans quelques années pour suivre le respect des recommandations établies sur base du standard.

L'analyse statistique des relations entre les foyers et lignées de *M. bovis* et différents facteurs potentiellement à risque ici en Belgique a permis d'identifier certains facteurs de risque, dont les principaux sont la prévalence en bTB l'année antérieure, la proximité ou le voisinage d'un foyer et la densité d'animaux. Ces observations doivent inciter à plus de vigilance en matière d'enquête épidémiologique et d'éradication des foyers en cours. Elles rappellent également l'importance des tuberculinations dans le dépistage, non sans souligner le manque de sensibilité et de spécificité de ce test de routine. Il est indispensable de poursuivre les efforts dans l'élaboration d'un test diagnostique plus sensible et plus rapide qui permettrait d'atteindre l'objectif d'éradication totale de cette maladie. Les mouvements d'animaux à partir des zones infectées se sont avérés à risque, il est donc primordial de ne pas baisser la garde en matière de contrôle des mouvements et des

tuberculinations à l'achat. Il faut sensibiliser les vétérinaires praticiens et les éleveurs quant à l'importance de cet acte.

La faune sauvage ne semble pas représenter un risque à ce jour en Belgique, mais la vigilance est de mise, au vu de la situation observée dans les pays voisins comme la France ou le Royaume-Uni.

Enfin, l'épidémiologie moléculaire mis en œuvre a permis de mettre des différences de comportement des souches de *M. bovis* en Belgique, laissant supposer l'existence de souches possédant des caractéristiques de virulence propres. Ceci renforce l'absolue nécessité de poursuivre le typage moléculaire systématique des souches de *M. bovis* en Belgique.

F. Liste des déplacements

- 17 Octobre 2008 : colloques sur les maladies émergentes et ré-émergentes organisées par l'AFSCA (Bruxelles)
- Octobre 2008 : entretiens de l'AESA (CERVA)
- 3 au 5 juin 2009 : journées AESA-AEEMA, Paris, Maisons-Alfort, communication orale (abstract en annexe 6)
- 25 au 28 août 2009 : *Fifth International M.bovis Conference*, Wellington, Nouvelle-Zélande, communication orale (abstract en annexe 7)
- 1 et 2 décembre 2009 : invitation à un séminaire sur la tuberculose bovine destiné aux inspecteurs vétérinaires ; la communication orale présentée à Wellington le sera à nouveau à Dublin, République d'Irlande.
- 24 au 26 mars 2010 : conférence annuelle de la '*Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*' (SVEPM), Nantes.

G. Liste des publications

- **Humblet M.-F., Boschioli M.L., Saegerman C.** Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Vet. Res.* (2009) 40: 50, DOI: 10.1051/vetres/2009033. (Annexe 1)
- **Humblet M.-F., Walravens K., Salandre O., Boschioli M.L., Gilbert M., Berkvens D., Fauville-Dufaux M., Godfroid J., Dufey J., Raskin A., Vanholme L., Saegerman C.** First questionnaire-based assessment of the intradermal tuberculosis skin test performed in cattle by field practitioners. *Submitted for publication in Vet. Microbiol.* (Annexe 2)
- **Humblet M.-F., Walravens K., Salandre O., Boschioli M.-L., Saegerman C.** Première évaluation et validation des pratiques d'intradermo- tuberculination des

vétérinaires praticiens ruraux basées sur un questionnaire d'enquête épidémiologique anonyme. Accepté pour publication dans « Epidémiologie et Santé Animale »

- **Humblert M.-F., Warlavens K., Salandre O., Boschioli M.-L., Saegerman C.** Première évaluation et validation des pratiques d'intradermo- tuberculation des vétérinaires praticiens ruraux basées sur un questionnaire d'enquête épidémiologique anonyme. Abstract soumis aux Rencontres-Recherche-Ruminants qui se tiendront les 2-3 décembre 2009 à Paris
- **Humblert M.-F., Walravens K., Salandre O., Boschioli M.-L., Gilbert M., Berkvens D., Fauville-Dufaux M., Godfroid J., Dufey J., Raskin A., Vanholme L. & Saegerman C.** Assessment methodology of the intra-dermal tuberculosis skin test performed in cattle by field practitioners. Abstract accepté en tant que poster à la SVEPM Annual Conference, Mars 2010, Nantes.
- **Humblert M.-F., Gilbert M., Walravens K., Fauville-Dufaux M., Govaerts M., Saegerman C.** Development of a systematic methodology based on molecular epidemiology to assess risk factors for bovine tuberculosis: the example of Belgium during the 1995 to 2006 period. Abstract accepté en tant que communication orale à la SVEPM Annual Conference, Mars 2010, Nantes.
- **Saegerman C., Porter S., Humblert M.-F.** Assessment of potential reemergence of bovine brucellosis/tuberculosis in the European Union. *Proceedings of the International Colloquium on Emerging Animal Diseases: From Science to Policy*, 17 octobre 2008, Bruxelles
- **Walravens K., Allix C., Supply P., Rigouts L., Godfroid J., Govaerts M., Portaels F., Dufey J., Vanholme L., Fauville-Dufaux M., Saegerman C.** Dix années d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine en Belgique. *Epidémiol. et santé anim.* (2006), 49: 103-111 (Annexe 5)

H. Références bibliographiques

AFSCA, 2007, Rapport d'activités, pp. 83 et 102

Aranaz A., Lichana E., Mateos A., Dominguez L., Vidal D.K., Domingo M., et al., Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis, *J. Clin. Microbiol.* (1996) 34:2734–2740

Artois M., Loukiadis E., Garin-Bastuji B., Thorel M.F., Hars J., Infection des mammifères sauvages par *Mycobacterium bovis* – Risque de transmission aux bovins domestiques, *Bulletin Epidémiologique, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments* (2004) 13:1–3

Cheeseman C.L., Wilesmith J.W., Stuart F.A., Mallinson P.J., Dynamics of tuberculosis in a naturally infected badger population, *Mammal Rev.* (1988) 18:16–71.

Cosivi O., Grange J.M., Daborn C.J., Raviglione M.C., Fujikura T., Cousins D., Robinson R.A., Huchzermeyer H.F.A.K., de Kantor I., Meslin F.X. Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emer. Infect. Dis.* (1998) 4: 59-70.

Delahay R.J., Cheeseman C.L., Clifton-Hadley R.S., Wildlife disease reservoirs: the epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*Meles meles*) and other British mammals, *Tuber. Lung Dis.* (2001) 81:1–7.

Delahay R.J., Smith G.C., Barlow A.M., Walker N., Harris A., Clifton-Hadley R.S., Cheesman C.L., Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: a survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle, *Vet. J.* (2007) 173:287–301.

Denny G.O., Wilesmith J.W., Bovine tuberculosis in Northern Ireland: a case-control study of herd risk factors, *Vet. Rec.* (1999) 144:305–310

Departement for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA), TB statistics, <http://www.defra.gov.uk/animalh/tb/stats/latest.htm>, consulté le 29/06/2009

Dufour B., 1994, Le questionnaire d'enquête. *Epidemiol. Santé Anim.* 25, 101-112.

European Food Safety Agency (EFSA). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance on foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *EFSA J.* 2006 [on line] 94: 136-143. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/DocumentSet/Zoonoses_Report_EU_en_2005.pdf

Gilbert M., Mitchell A., Bourn D., Mawdsley J., Clifton-Hadley R., Wint W. Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. *Nature* (2005) 435: 491-496.

Gopal R., Goodchild A., Hewinson G., De la Rua-Domenech R., Clifton-Hadley R., Introduction of bovine tuberculosis to north-east England by bought- in cattle, *Vet. Rec.* (2006) 159:265–271

Gortázar C., Vicente J., Samper S., Garrido J.M., Fernández-De-Mera I.G., Gavín P., et al., Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from wild ungulates in South-Central Spain, *Vet. Res.* (2005) 36:43–52

Griffin J.M., Haheisy T., Lynch K., Salman M.D., McCarthy J., Hurley T., The association of cattle husbandry characteristics, environmental factors and farmer characteristics with the occurrence of chronic bovine tuberculosis in dairy herds in the Republic of Ireland, *Prev. Vet. Med.* (1993) 17:145–160.

Griffin J.M., Martin S.W., Thorburn M.A., Eves J.A., Hammond R.F. A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland. *Prev. Vet. Med.* (1996) 27: 75-87.

Humblet M.F., Boschioli M.L., Saegerman C. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Vet. Res.* (2009) 40: 50, DOI: 10.1051/vetres/2009033.

- Jackson R., De Lisle G.W., Morris R.S.,** A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand, *N. Z. Vet. J.* (1995) 43:346–352.
- Kaneene J.B., Bruning-Fann C.S., Granger L.M., Miller R., Porter-Spalding A.** Environmental and farm management factors associated with tuberculosis on cattle farms in northeastern Michigan, *J.A.V.M.A.* (2002) 221: 837-842
- Menzies F.D., Neill S.D.,** Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. *Vet. J.* (2000) 160: 92-106
- Morris R.S., Pfeiffer D.U., Jackson R.,** The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections, *Vet Microbiol.* (1994) 40:153–177
- Munroe F.A., Dohoo I.R., McNab W.B., Spangler L.** Risk factors for the between-herd spread of *Mycobacterium bovis* in Canadian cattle and cervids between 1985 and 1994. *Prev. Vet. Med.* (1999) 41: 119-133.
- Parra A., Fernández-Llario P., Tato A., Larrasa J., García A., Alonso J.M., et al.,** Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections of pigs and wild boar using a molecular approach, *Vet. Microbiol.* (2003) 97:123–133.
- Phillips C.J.C., Foster C.R.W., Morris P.A., Teverson R.,** The transmission of *Mycobacterium bovis* infection in cattle, *Res. Vet. Sci.* (2003) 74:1–15
- Quigley F.C., Costello E., Flynn O., Gogarty A., McGuirk J., Murphy A., Egan J.,** Isolation of myco- bacteria from lymph node lesions in deer, *Vet. Rec.* (1997) 141:516–518
- Serraino A., Marchetti G., Sanguinetti V., Rossi M.C., Zanoni R.G., Catozzi L., et al.,** Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology technique, *J. Clin. Microbiol.* (1999)37:2766–2771
- Thoen C., LoBue P., de Kantor I.,** The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis, *Vet. Microbiol.* (2006) 112:339–345.
- Van Arendonk J.A.M., Liinamo A.E.** Dairy cattle production in Europe. *Theriogenology* (2003) 59: 563-9.
- Walravens K., Allix C., Supply P., Rigouts L., Godfroid J., Govaerts M., Portaels F., Dufey J., Vanholme L., Fauville-Dufaux M., Saegerman C.** Dix année d'épidémiologie moléculaire de la tuberculose bovine en Belgique. *Epidémiol. et santé anim.* (2006), 49: 103-111
- White P.C.L., Benhin J.K.A.** Factors influencing the incidence and scale of bovine tuberculosis in cattle in southwest England. *Prev. Vet. Med.* (2004) 63: 1-7.
- Wint G.R.W., Robinson T.P., Bourn D.M., Durr P.A., Hay S.I., Randolph S.E., Rogers D.J.,** Mapping bovine tuberculosis in Great Britain using environmental data, *Trends Microbiol.* (2002) 10:441–444.
- Zanella G., Durand B., Hars J., Moutou F., Garin- Bastuji B., Duvauchelle A., et al.,** *Mycobacterium bovis* in wildlife in France, *J. Wildl. Dis.* (2008) 44: 99–108.