



Mycobactéries

Mycobacterium avium paratuberculosis

Contexte

La paratuberculose est une maladie chronique, causée par *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), qui concerne essentiellement les ruminants et qui est responsable de pertes économiques importantes en spéculation bovine. Cette maladie est aussi connue chez les cervidés sauvages ou élevés en captivité. Des bovins peuvent, de manière indirecte, infecter des cervidés et inversement. Néanmoins, chez les bovins, les veaux s'infectent dès les premiers mois de vie (fenêtre de réceptivité maximale avant 8 semaines et infection possible jusqu'à 6 mois, les adultes étant beaucoup plus résistants à l'infection). Donc le premier facteur de risque pour un jeune veau, c'est le contact avec sa mère infectée (ingestion de colostrum/lait) et d'autres bovins. La faune sauvage ne doit pas être considérée comme le premier facteur de risque. Chez les cervidés, l'évolution est plus rapide que ce qui est décrit chez les bovins. Brièvement, la paratuberculose concerne aussi bien les jeunes cerfs que les adultes. Des individus juvéniles (moins d'un an) et sub-adultes (moins de deux ans) sont susceptibles de développer une paratuberculose clinique et d'en mourir avant l'âge adulte. En conditions naturelles, les cervidés sauvages atteints de paratuberculose peuvent être retrouvés morts dans un état de cachexie extrême et souvent polyparasités. Les lésions macroscopiques les plus fréquemment observées consistent en une adénomégalie mésentérique avec, parfois, des foyers de nécrose de liquéfaction ou de caséification. Les lésions d'entérite chronique peuvent être discrètes avec un épaissement de la sous-muqueuse parfois à peine perceptible sur un court segment de l'intestin grêle. Le tableau lésionnel est très variable même chez des animaux détectés *a posteriori* positifs en culture (Mackintosh et Griffin, 2010).

La voie oro-fécale (contamination de l'alimentation par les matières fécales - mécanisme horizontal de transmission d'un animal à un autre) et la voie pseudo-verticale (mamelles des mères souillées par les matières fécales - transmission au petit lors de la tétée) sont des voies majeures de transmission de la bactérie. Cependant, des études ont démontré que la voie intra-utérine est plus fréquente chez les cervidés que chez les petits ruminants. La symptomatologie de la maladie est d'ailleurs plus précoce chez les faons (avec une évolution très aiguë de la maladie et des mortalités dès les premiers mois de vie) que chez les veaux (rarement avant 12 mois d'âge, la maladie est plus chronique chez les bovins et se déclare généralement entre 2 et 7 ans) (Thompson *et al.*, 2007).

Outils de diagnostic

L'extraction de l'ADN total des différentes matrices considérées (tissus et/ou matières fécales) est réalisée à l'aide du kit Nucleospin® DNA stool ou Nucleospin® tissue (Macherey-Nagel). L'ADN extrait est ensuite soumis à une PCR en temps réel, réalisée sous TaqMan, en duplex pour la présence des loci IS900 et F57, cibles utilisées pour l'identification de *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis*



(Irengue *et al.*, 2009). De plus, une qPCR β -Actine spécifique est réalisée en parallèle afin de contrôler la qualité de l'ADN extrait ainsi que de la qualité du signal obtenu par qPCR *MAP*. Les amorces et sondes (Integrated DNA Technologies) utilisées pour cette expérience sont décrites ci-dessous.

Primer	Séquence (5' → 3')
IS900-Fwd	5'-TGC TGA TCG CCT TGC TCA-3'
IS900-Rev	5'-GGG CCT GAT CGG CGA TGA T-3'
IS900-P	5'-CCG GGC AGC GGC TGC TTT ATA TTC-3'
F57-Fwd	5'-TTC ATC GAT ACC CAA ACT CAG AGA-3'
F57-Rev	5'-GTT CGC CGC TTG AAT GGT-3'
F57-P	5'-TGC CAG CCG CCC ACT CGT G-3'

Le mix PCR (20 μ l) comprend 1X qPCRBIO Probe Mix Hi-ROX (Nippon Genetics), les amorces (0,375 μ M), sondes (0,25 μ M) et \leq 100 ng d'ADN génomique extrait. Les conditions d'amplification sont en trois étapes : une première dénaturation de 3 minutes à 95°C suivie de 40 cycles composés d'un passage de 5 secondes à 95°C et d'une étape de 20 secondes à 60°C. Les analyses sont réalisées sur QuantStudio 1 (Applied Biosystems).

Analyses *Map* réalisées en 2023

Au total, 88 analyses *Map* ont été effectuées en 2023. En ce qui concerne les analyses sur cervidés, elles étaient réalisées si des lésions suggestives étaient détectées soit sur cervidés trouvés morts ou abattus pour raisons sanitaires soit sur cervidés présumés sains abattus à la chasse. Parmi les 34 cervidés analysés, 14 résultats étaient qPCR *Map* positifs (11 Cerfs élaphe et 3 Chevreuils). Concernant les autres espèces analysées (les blaireaux notamment), aucun cas positif n'a été détecté.

Tableau 1 : Cas positifs de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* mis en évidence au cours de l'année 2023 par qPCR (n = 14).

Référence	Genre	Lieu de tir/découverte (Commune – CP)	Date de tir/découverte
Animaux trouvés morts			
W23-070	Cervus	Château de La Neuville (Stoumont – 4987)	16/03/23
W23-925	Cervus	Möderscheid (Amel – 4770)	16/07/23
W23-1443	Cervus	Borzée (La Roche – 6980)	30/09/23
W23-1444	Capreolus	Warnant-Dreye (Villers-le-Bouillet – 4530)	17/07/23
W23-1658	Capreolus	Petit-Thier (Vielsalm – 6690)	12/09/23
W23-1729	Cervus	Wibrin (Houffalize – 6666)	16/12/23
Achèvements sanitaires			
W23-1427	Cervus	Eimerscheid (Bullange – 4760)	21/09/23
W23-1429	Cervus	N829, Lavacherie (Sainte-Ode – 6680)	23/09/23
W23-2062	Capreolus	Opont (Paliseul – 6852)	08/03/23
Animaux de captivité/élevage			
W23-1654	Cervus	Flamisoul (Bertogne – 6887)	17/11/23



W23-1655	Cervus	Flamisoul (Bertogne – 6887)	17/11/23
W23-1656	Cervus	Flamisoul (Bertogne – 6887)	17/11/23
W23-1662	Cervus	Flamisoul (Bertogne – 6887)	24/11/23
Animaux prélevés sur les chasses			
C23-002	Cervus	St-Michel et Freyr (Saint-Hubert – 6870)	26/10/23

Mycobacterium avium spp. *avium* & *hominissuis*

Contexte

La tuberculose aviaire (*Mycobacterium avium* spp. *avium*, *Maa*) est une zoonose affectant à la fois les oiseaux, les mammifères et, de manière opportuniste, les humains immunodéprimés. Les voies d'entrée sont digestives et respiratoires. Les manifestations cliniques incluent l'émaciation, la diarrhée, ainsi que la formation de granulomes caséux, avec des calcifications possibles dans le foie, la rate, les intestins, et la moelle osseuse. Cette bactérie intracellulaire peut persister dans l'organisme très longtemps, rendant l'éradication difficile en raison du portage chronique et de l'excrétion continue.

Chez les cervidés, l'infection par *Maa* provoque des lésions purulentes ou granulomateuses dans les ganglions lymphatiques rétropharyngés et mésentériques. Ces lésions sont similaires, d'un point de vue macroscopique et histologique, à celles causées par *Mycobacterium bovis*.

Une autre mycobactérie, *Mycobacterium avium* spp. *hominissuis* (*Mah*) est un pathogène ubiquitaire et opportuniste, principalement observé chez des humains immunodéprimés ou présentant des maladies pulmonaires préexistantes.

Outils de diagnostic

L'ADN extrait des échantillons est soumis à une PCR en temps réel (TaqMan) pour détecter les loci IS901 et IS1245, ce qui permet de différencier *Mycobacterium avium* spp. *avium* (IS901+ et IS1245+) de *Mycobacterium avium* spp. *hominissuis* (IS901- et IS1245+). Un contrôle interne pour la β -actine est également effectué.

Primer	Séquence (5' → 3')
IS901-Fwd	5'-GTG ATC AAG CAC CTT CGG AA-3'
IS901-Rev	5'-GCT GCG AGT AGC TTG ATG AG-3'
IS901-P	5'-AAC AAC ATC GAC ACG ATC GCC GAC AA-3'
IS1245-Fwd	5'-CCG GAT CTG CAA AGA CCT C-3'
IS1245-Rev	5'-CGA CAC CAC CCG ATG ATT C-3'
IS1245-P	5'-CCG TTG GGT TAT CAG CGC TTT C-3'



Le mix PCR (20 µl) comprend 1X qPCRBIO Probe Mix Hi-ROX (Nippon Genetics), des amorces (0,375 µM), sondes (0,25 µM) et ≤ 100 ng d'ADN génomique extrait. Les conditions d'amplification sont en trois étapes : une première étape de dénaturation de 3 minutes à 95°C suivie de 40 cycles composés d'un passage de 5 secondes à 95°C et d'une étape de 20 secondes à 60°C. Les analyses sont réalisées sur QuantStudio 1 (Applied Biosystems).

Analyses *Maa/Mah* réalisées en 2023

Au total, 90 animaux ont été analysés par qPCR en 2023. Parmi ces analyses, 5 résultats étaient positifs pour *Maa* et concernaient des oiseaux (4 cas positifs sur 8 oiseaux analysés) ainsi qu'un cervidé (1 cas sur 34 cervidés analysés). Aucun cas positif de *Mah* n'a été mis en évidence.

Tableau 2 : Cas positifs *Mycobacterium avium subsp. avium* mis en évidence au cours de l'année 2023 par qPCR (n = 5).

Référence	Genre	Lieu de tir/découverte (Commune – CP)	Date de tir/découverte
Achèvements sanitaires			
W23-1071	Cervus	Cherna (Stoumont – 4987)	7/08/23
Animaux de captivité/élevage			
W23-1427	Gallus	NC	NC
Animaux de CREAVER			
W23-058	Branta	Perwez (Perwez – 1360)	NC
W23-998	Falco	Les Waleffes (Faimés – 4317)	31/07/23
W23-1426	Buteo	Beauraing (Beauraing – 5570)	20/07/23

Mycobacterium bovis (et autres mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*)

Sur base du niveau de surveillance mis en place en Wallonie, la tuberculose bovine n'a, jusqu'à présent, pas été détectée en faune sauvage non captive. La situation sanitaire (en Belgique et dans les pays voisins) impose de classer *M. bovis* et autres MTC dans la liste prioritaire des pathogènes potentiellement émergents à rechercher. Il s'agit d'une maladie à déclaration obligatoire en Belgique et classée 'D + E' (ruminants sauvages et suidés) et 'E' (blaireaux) dans l'AHL. Pour les cervidés et suidés prélevés en période de chasse ou trouvés morts, toute lésion suggestive est soumise à une analyse moléculaire. Pour les blaireaux (notamment les accidentés sur les routes), les analyses moléculaires sont systématiquement réalisées. Tout résultat positif avec la qPCR de première ligne est automatiquement transmis au LNR (Sciensano).

Les analyses réalisées en 2023 dans le cadre du suivi WildTub sont détaillées dans la page « résultats – WildTub » du site web.