

AVIS 12-2016

Sujet:

**Évaluation du programme belge de surveillance
de la tuberculose bovine**
SciCom 2015/11

Avis scientifique approuvé par le Comité scientifique le 17 juin 2016.

Key terms: *Mycobacterium bovis* – bovine tuberculosis – surveillance – diagnostic tests – epidemiology

Sleutelwoorden: *Mycobacterium bovis* – boviene tuberculose – bewaking – diagnostische testen – epidemiologie

Mots clés: *Mycobacterium bovis* – tuberculose bovine – surveillance – tests diagnostiques – épidémiologie

Table des matières

Résumé détaillé	4
Executive summary	8
1 Termes de référence	11
1.1 Contexte et questions posées	11
1.2 Méthodologie.....	13
2 Introduction.....	13
3 Mesures actuelles en Belgique concernant la TBb.....	14
4 Évaluation des tests diagnostiques actuels pour la détection de TBb	14
5 Évaluation du programme actuel de surveillance de la TBb en Belgique	16
5.1 Analyse ‘scenario tree’	16
5.2 Nombre attendu de réactions faussement et réellement positives.....	16
5.3 Estimation des coûts directs et indirects de la surveillance de la TBb	16
5.4 Conclusion	17
6 Réponse aux différentes questions formulées dans les termes de référence	17
6.1 Évaluation du programme actuel de surveillance :.....	17
6.1.1 Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération lors de l'examen post mortem systématique des bovins de boucherie afin d'améliorer la détection des cas de tuberculose ?.....	17
6.1.2 Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation...) pourraient être pris en considération lors de la réalisation des tuberculinations à l'achat ? L'analyse par tuberculination à l'achat, telle que réalisée actuellement par les vétérinaires praticiens, est-elle utile dans le cadre de la surveillance ?.....	18
6.1.3 Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération afin de prendre des mesures proportionnelles en cas de suspicion ?.....	19
6.1.4 Le suivi des animaux laitiers dans les troupeaux dont le lait est destiné à la vente de lait cru est-il encore utile dans la situation épidémiologique actuelle ?.....	19
6.1.5 Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation, par ex. engraissement à titre exclusif...) pourraient être pris en considération lors du suivi, via tuberculination au cours de la période de stabulation, des anciens foyers, des troupeaux de contact et des troupeaux suspects, et ce pilier de la surveillance pourrait-il être optimisé ?	19
6.1.6 Le risque lié à l'introduction de bovins provenant d'États membres officiellement indemnes avec un nombre important de foyers ou de zones présentant une problématique accrue de tuberculose, est-il plus élevé que lors de l'introduction de bovins issus du commerce national ?.....	19
6.2 Évaluation des méthodes actuelles de diagnostic pour la détection de la tuberculose bovine sur base des caractéristiques de performance analytique et diagnostique des différents tests et d'une utilisation adaptée à la finalité prévue ('fit-for-purpose') afin de rendre la surveillance la plus efficace possible.	20
6.2.1 Test intradermique (tuberculination) :.....	20
6.2.2 La méthode de culture actuelle pourrait-elle être optimisée afin d'accélérer la croissance de Mycobacterium bovis et d'obtenir plus rapidement une infirmation ou une confirmation, au moyen d'une croissance bactérienne avec isolement et identification ?	22
6.2.3 Les caractéristiques d'analyse des PCR actuelles suffisent-elles pour une utilisation en tant que test de dépistage ou de confirmation sans devoir attendre les résultats de la culture ?	22
6.2.4 Test de détection de l'interféron gamma (IFN- γ)	22
6.2.5 Les tests ELISA « anticorps » disponibles sur le marché peuvent-ils être utilisés de manière judicieuse en Belgique ?.....	24

6.2.6	L'arbre de décision présenté, incluant l'utilisation de la tuberculination et du test de détection de l'interféron gamma, peut-il être validé ?	24
6.3	Evaluation des propositions de modification de l'actuel arrêté royal du 17 octobre 2002 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine :	24
6.3.1	Ajout de la notification obligatoire de Mycobacterium bovis et de la tuberculose chez les espèces animales autres que l'espèce bovine. En cas de constatation chez d'autres espèces animales (chiens, chats, ovins, caprins, animaux exotiques, animaux sauvages, autres animaux domestiques, animaux de zoo (éléphants)), des mesures doivent-elles être prises, notamment si des bovins sont détenus dans la même exploitation ?	24
6.3.2	Ajout éventuel d'autres mycobactéries que Mycobacterium bovis, qui est la seule actuellement prévue dans l'arrêté : M. caprae, M. tuberculosis ou autres mycobactéries.	25
6.3.3	Fusionnement des définitions 'suspecté d'être atteint' et 'suspecté d'être contaminé'. 25	
6.3.4	Propositions de mesures proportionnelles en cas de suspicion au niveau individuel et au niveau du troupeau, basées sur l'enquête épidémiologique et sur une évaluation des risques..	26
6.3.5	Diagnostic : prévoir les dispositions légales pour l'utilisation du test de détection de l'interféron gamma, de la PCR et de techniques moléculaires pour le profilage génétique.	26
6.3.6	Adaptation et clarification de l'âge minimal pour la tuberculination à l'achat et pour la tuberculination d'étable.....	26
6.3.7	Adaptation des piliers de la surveillance avec une attention particulière pour les tuberculinations à l'achat.....	26
6.4	Évaluation du plan d'action relatif à la tuberculose :	26
7	Recommandations à l'égard du futur programme de surveillance de la TBb.....	26
8	Conclusion	27
	Références.....	29
	Présentation du Comité scientifique de l'AFSCA.....	32
	Membres du Comité scientifique	32
	Conflit d'intérêts.....	32
	Remerciements	32
	Composition du groupe de travail.....	33
	Cadre légal.....	33
	Disclaimer	33

Résumé détaillé

Contexte et termes de référence

La tuberculose bovine (TBb) est une maladie infectieuse transmissible à l'homme causée par la bactérie *Mycobacterium bovis* qui touche les bovins et autres animaux domestiques ainsi que la faune sauvage. L'homme est essentiellement exposé à la maladie par le biais de la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru, ou par le biais d'un contact avec des animaux (aérosol). La TBb est une maladie à notification obligatoire.

Le programme de surveillance de la tuberculose bovine en Belgique a déjà quelques années et se base sur une surveillance clinique passive et des tests diagnostiques de routine. Bien que la Belgique soit indemne de TBb depuis 2003, un ou plusieurs foyers sont quand même détectés chaque année. D'un point de vue économique, il est très important que la Belgique conserve son statut officiellement indemne de tuberculose afin de permettre un commerce intracommunautaire rapide.

L'évolution épidémiologique dans un certain nombre de pays voisins a montré que, lorsque la vigilance à l'égard de la TBb baisse chez les animaux domestiques, la TBb peut réapparaître. En outre, cette baisse de la vigilance peut entraîner une propagation de la TBb à la faune sauvage, rendant encore plus difficile le contrôle de la TBb. Des stakeholders ont récemment identifié un certain nombre de problèmes relatifs à leur rôle dans le programme actuel de surveillance de la TBb.

Il est demandé au Comité scientifique de réaliser une évaluation approfondie du programme actuel de surveillance de la TBb. Outre une évaluation générale, un grand nombre de questions spécifiques sont également soumises au Comité scientifique.

Méthodologie

L'évaluation se base sur des exercices de simulation (scénario *tree analyse* afin d'évaluer la sensibilité de chaque composante du programme de surveillance), une étude de benchmarking qui compare le nombre attendu d'animaux positifs avec le nombre réel d'animaux positifs et une estimation des coûts directs et indirects de la surveillance.

De plus, cet avis comprend une évaluation des techniques de diagnostic existantes pour la TBb et les facteurs de risque dont il faut tenir compte pour surveiller la maladie. Cette évaluation se base à la fois sur les connaissances disponibles dans la littérature scientifique et sur l'opinion d'experts.

Enfin, un certain nombre de recommandations concernant la surveillance de la TBb ont été formulées.

Étude de littérature : tests diagnostiques et facteurs de risque

Le Comité scientifique a réalisé une étude approfondie de la littérature afin de caractériser et d'évaluer les différentes techniques de diagnostic de la TBb susceptibles d'être utilisées en Belgique dans le cadre de la surveillance de la TBb.

Le test intradermique, aussi appelé « épreuve d'hypersensibilité retardée », consiste en l'injection intradermique de dérivés protéiques purifiés (*purified protein derivative*, PPD) de tuberculine bovine et en la détection, 72 heures plus tard, d'un éventuel gonflement (hypersensibilité retardée) au niveau du site d'injection. Ce test peut être effectué au moyen de tuberculine bovine uniquement (*single intradermal test*, SIT) ou, à titre de comparaison, au moyen de tuberculine à la fois aviaire et bovine (*single intradermal comparative test*, SICT), ce qui permet de distinguer une infection causée par *M. avium* d'une infection causée par *M. bovis*. Ce test doit être réalisé dans la partie antérieure de l'encolure afin d'obtenir la sensibilité la plus élevée possible. La littérature fait mention d'une forte variation en termes de sensibilité (*Se*) et de spécificité (*Sp*) du test : la valeur *Se* se situe entre 53% (27.3-81.5, 95% CI) et 69.4% (40.1-92.2, 95% CI) ; la valeur *Sp* se situe entre 55.1% et plus de

99%, avec une valeur médiane supérieure à 95%. Un grand nombre de paramètres techniques et socio-économiques peuvent en effet influencer les résultats du test intradermique.

L'isolement de *M. bovis* au moyen d'une culture bactérienne constitue la méthode de référence en termes de diagnostic de la TBb. En vertu de la législation belge actuelle, l'isolement de la bactérie constitue la seule preuve définitive permettant de confirmer un foyer. Néanmoins, la culture bactérienne prend énormément de temps et peut durer de 8 à 12 semaines. Il existe des méthodes permettant d'obtenir des résultats plus rapidement (dans les 2-3 semaines) mais celles-ci ne sont pas validées en médecine vétérinaire. Aucun protocole de référence n'est décrit dans la littérature, ni dans les manuels de référence en ce qui concerne la culture de mycobactéries. Il est dès lors nécessaire que le protocole appliqué pour la culture de mycobactéries soit validé dans chaque laboratoire. Le développement de nouveaux milieux de culture bactérienne ou de nouvelles méthodes doivent être mis en perspective avec l'élaboration de **méthodes moléculaires** (PCR en temps réel). Les méthodes moléculaires donnent en principe un résultat plus rapide que la culture bactériologique.

Il existe plusieurs méthodes moléculaires permettant de détecter *M. bovis*. La meilleure méthode moléculaire en termes de *Se* et de *Sp* est la PCR en temps réel (RT-PCR) : *Se* 87% et *Sp* 97%. Cette méthode est une bonne option afin de pouvoir établir un diagnostic rapide et de qualité de la TBb. C'est pourquoi, il est recommandé de prendre en considération la méthode RT-PCR comme test officiel pour le diagnostic de la TBb. L'isolement de *M. bovis* demeure toutefois pertinent pour permettre le typage moléculaire des souches ainsi que les enquêtes épidémiologiques.

Le **test de l'interféron gamma** mesure la libération de la lymphokine interféron gamma (IFN- γ) à l'aide de lymphocytes incubés dans un système de culture de sang total, conjointement avec un antigène spécifique (comme la tuberculine PPD), durant une période de 16 à 24 heures. L'IFN- γ bovin peut être détecté grâce à la méthode sandwich ELISA par le biais de deux anticorps monoclonaux dirigés contre l'IFN- γ bovin. Étant donné que le test utilise des cellules sanguines vivantes, il est important que les échantillons sanguins arrivent au laboratoire dans les plus bref délais et certainement pas plus tard que le jour du prélèvement. Sur la base d'une méta-analyse de 15 études de terrain réalisées entre 1991 et 2006, on constate une valeur médiane de *Se* estimée à 87,6% (avec une dispersion allant 73% à 100%) et une *Sp* de 96,6% (avec une dispersion allant de 85% et 99,6%). La littérature mentionne également une stimulation potentielle de la production d'IFN- γ suite à un test intradermique. Le test IFN- γ permet en outre de détecter les animaux infectés à un stade d'infection plus précoce que le test intradermique. En conclusion, on peut dire que le test IFN- γ est très prometteur mais que les différents kits et antigènes doivent être validés dans les conditions rencontrées sur le terrain en Belgique.

Il existe différents **tests sérologiques** pour la TBb. Parmi les tests de détection d'anticorps, le test ELISA semble le plus approprié. Ce test est complémentaire aux tests basés sur l'immunité cellulaire, en particulier pour détecter les animaux anergiques qui ne réagissent plus au test intradermique ou au test IFN- γ . Le test ELISA est une option facile, rapide, objective et économique dans le cadre de la surveillance de la TBb. Néanmoins, la *Se* du test ELISA est faible (valeur estimée à 63% avec une dispersion allant de 30% à 97%) tandis que la *Sp* est estimée à 98% (avec une dispersion allant de 88% à 100%). Une résurgence de la production d'anticorps a été rapportée suite à la réalisation du test intradermique (après 2 semaines).

Un exercice de simulation a été réalisé afin de calculer les *Se* et *Sp* théoriques des différentes combinaisons de tests diagnostiques. Ces résultats peuvent être utilisés par les gestionnaires de risques en vue de l'obtention des *Se* et *Sp* souhaitées pour la surveillance future de la TBb.

L'utilisation de chacun des tests diagnostiques mentionnés chez d'autres animaux que les bovins a également été évaluée. En règle générale, on peut conclure que ces études sont basées sur un petit

nombre d'animaux ou de troupeaux pour l'estimation des Se et Sp , et que les informations nécessaires font même défaut pour certaines espèces. Par conséquent, l'utilisation pratique de ces tests chez d'autres animaux que les bovins n'est pour l'instant pas recommandée.

Enfin, tous les facteurs de risque connus de l'infection TBb ont été décrits sur base de la littérature scientifique. Ces facteurs de risque doivent être pris en considération afin de permettre une surveillance de la TBb basée sur le risque.

Évaluation du programme actuel de surveillance de la TBb

Une analyse 'scenario tree' a été réalisée afin d'évaluer la sensibilité des différentes composantes du programme belge de surveillance de la TBb. Les résultats de ce modèle (scénarios) ont principalement été influencés par les paramètres suivants : le nombre d'animaux examinés par composante et la sensibilité du/des test(s) utilisé(s). Une validation externe des résultats obtenus à l'aide d'un modèle de régression logistique a montré que les tuberculinations au cours de la période de stabulation réalisées durant le screening hivernal et les inspections post-mortem effectuées au sein de l'abattoir constituent des éléments importants pour la détection de foyers de TBb en Belgique. Vu le peu de résultats positifs, ce n'était pas le cas de la surveillance lors de l'achat. Celle-ci s'est même révélée être un facteur de risque d'introduction et de propagation de la TBb. En outre, une étude de benchmarking, dans laquelle le nombre attendu d'animaux positifs a été comparé avec le nombre réel d'animaux déclarés positifs, a clairement révélé un sous-rapportage au niveau de la surveillance lors de l'achat. Vu la notification relativement basse de réactions positives ou douteuses à la suite d'une tuberculination lors de l'achat, l'efficacité de cette surveillance peut être remise en question. Les coûts de la surveillance lors de l'achat en 2014 étaient estimés à plus d'un million d'€. En conclusion, on peut s'interroger sur l'efficacité du programme actuel de surveillance, qui recourt principalement au test intradermique (tuberculination).

Recommandations

Le Comité scientifique recommande d'adapter le programme de surveillance :

- en remplaçant le test intradermique (tuberculination) par un test combiné IFN- γ et sérologique (en parallèle) lors de l'achat. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test intradermique à titre de test de confirmation ;
- en conservant le test intradermique, réalisé par des vétérinaires praticiens, pour la campagne hivernale. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test IFN- γ à titre de test de confirmation ;
- en réalisant un test intradermique (comparatif), un test IFN- γ et un test sérologique sur tous les bovins présents dans le cas d'un foyer suspect ou confirmé ;
- en conservant le test intradermique, réalisé par des vétérinaires praticiens, pour l'analyse tracing back et tracing on après un foyer confirmé. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test IFN- γ à titre de test de confirmation ;
- en instaurant une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels en fonction de leur risque à l'égard de la TBb afin d'obtenir une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque au sein de l'abattoir.

Il est recommandé de conserver les données épidémiologiques dans une banque de données centrale de l'AFSCA, consultable par tous les acteurs du réseau de surveillance afin de permettre une surveillance basée sur le risque et tenant compte de l'historique de la TBb.

Il est aussi recommandé d'adapter les mesures de contrôle et leur durée (par ex. : blocage des élevages) sur base des indicateurs qui permettent d'établir un profil de risque des élevages/animaux.

De plus, il est également recommandé d'adapter la législation en fonction des tests de diagnostic actuellement en vigueur ou bientôt disponibles (inclure les méthodes moléculaires (RT-PCR), le test IFN- γ et le test sérologique ou toute autre nouvelle méthode potentielle). La RT-PCR doit être utilisée pour le diagnostic de première ligne (en parallèle de la culture bactériologique) afin de permettre une confirmation plus rapide d'un cas positif et de réduire la durée de blocage d'un élevage après un test positif ou douteux.

Le récent cas de TBb constaté chez un alpaga importé en Belgique (2016) montre que la vigilance à l'égard de la TBb chez les animaux domestiques autres que les bovins est primordiale vu que ces animaux peuvent constituer une source d'introduction de la maladie. En outre, des cas de TBb ont récemment été notifiés en France chez des blaireaux, des cerfs et des sangliers, à proximité de la frontière belge. C'est pourquoi, il est vivement conseillé de mettre en place en Belgique un programme de surveillance continu pour la faune sauvage, se basant sur les facteurs de risque connus. Pour les camélidés, il est également indiqué de mettre en place un programme de surveillance. Pour terminer, il est recommandé de stimuler le développement et la validation des tests diagnostiques pouvant être utilisés auprès des animaux domestiques autres que les bovins et de la faune sauvage. Ces tests peuvent être d'une grande utilité lorsque ces animaux sont détenus avec des bovins dans la même exploitation ou à proximité immédiate d'élevages bovins.

Il est important d'augmenter la vigilance de tous les acteurs concernés par la surveillance de la TBb à l'aide de formations et d'échanges d'informations réguliers. Des mesures élémentaires de biosécurité (par ex. quarantaine) doivent être appliquées de manière correcte et persistante par les éleveurs de bovins en Belgique, étant donné que celles-ci sont très importantes dans le cadre de la prévention de la propagation de la TBb. Les éleveurs et les vétérinaires doivent dès lors être régulièrement encouragés à appliquer ces mesures de biosécurité.

Executive summary

Background & Terms of reference

Bovine tuberculosis (bTB) is an infectious zoonotic disease caused by *Mycobacterium bovis* that may affect cattle, other domesticated animals and wildlife. People get mostly exposed via the consumption of raw milk and raw milk products or via animal contact (aerosol). Bovine tuberculosis is an officially notifiable disease. Despite the fact that Belgium is officially free of bTB since 2003, its surveillance still remains important because almost every year one or more outbreaks are detected. From an economical perspective, it is very important for Belgium to maintain its officially tuberculosis free status in order to facilitate intracommunity trade.

The epidemiological evolution in a number of neighboring countries has demonstrated that, when awareness for bTB in domesticated animals decreases, bTB can reemerge. This decreased awareness in domesticated animals can lead to a spill-over of bTB to wild animals making the control of bTB even more difficult. Recently, stakeholders have expressed a number of problems and constraints about their role within the current bTB surveillance program.

Given these circumstances, the Scientific Committee was asked to perform a thorough evaluation of the current bTB surveillance and control program in Belgium. Next to a general evaluation, a great number of specific questions were asked.

Methodology

In this opinion, a thorough evaluation of the bTB surveillance in Belgium has been executed. This evaluation is based on simulation exercises ('scenario tree' analysis to evaluate the sensitivity of each surveillance component), a benchmarking study comparing the expected number of false positive reactors with the actual notified reactors and an estimation of the direct and indirect costs of surveillance.

Furthermore, this opinion contains a review of current diagnostic techniques for bTB and risk factors to be considered in bTB surveillance. This review is based on the available knowledge in scientific literature and on expert opinion.

Finally, a number of recommendations regarding bTB surveillance are proposed. Their relevance is evaluated by experts.

Literature review: diagnostic techniques and risk factors

The Scientific Committee has performed a comprehensive literature review to characterize and evaluate different diagnostic techniques for bTB which can be used in bTB surveillance in Belgium.

The intradermal skin test or delayed hypersensitivity test involves the intradermal injection of bovine tuberculin purified protein derivative (PPD) and the subsequent detection of swelling (delayed hypersensitivity) at the site of injection 72 hours later. This may be performed using bovine tuberculin alone (single intradermal test, SIT) or as a comparative test using avian and bovine tuberculins (single intradermal comparative test, SICT) to differentiate between an infection with *M. avium* and *M. bovis* respectively. The test should be performed in the anterior neck area to render its sensitivity as high as possible. In literature, a wide range of sensitivity (Se) and specificity (Sp) values are reported: Se between 53% (27.3-81.5, 95% CI) and 69.4% (40.1-92.2, 95% CI); Sp between 55.1% and more than 99% showing a median value over 95%. Indeed, a lot of technical and socio-economical parameters can affect the results of the intradermal skin test.

The isolation of *M. bovis* by bacterial culture is the gold standard method for the diagnosis of bTB. According to the Belgian legislation, the sole isolation of the bacteria remains the definitive proof for the confirmation of an outbreak. However, bacterial culture is time consuming and may last from 8 to 12 weeks. Methods which allow a faster result (in 2-3 weeks) exist, but are not validated in veterinary medicine. A single recommended protocol for bacterial culture of Mycobacteria has not

been described in literature or in reference manuals. Therefore, it is necessary that the culture protocol is validated in each laboratory. The development of new bacterial media or methods needs to be put in perspective with the development of **molecular methods** (RT-PCR). Molecular tests always surpass bacteriology in terms of rapidity in results.

There are various molecular methods to detect *M. bovis*. However, the best molecular method in term of Se and Sp is the real-time PCR (RT-PCR): Se 87% and Sp 97%. The method is a good option to obtain rapid and good quality diagnosis of bTB. Therefore, the RT-PCR should be considered as an official tool for the diagnosis of bTB. However, the isolation of *M. bovis* remains relevant to allow molecular typing and epidemiology.

The **interferon gamma test** measures the release of the gamma interferon (IFN- γ) lymphokine in a whole-blood culture system. The assay is based on the release of IFN- γ from lymphocytes sensitized during a 16–24-hour incubation period with a specific recall antigen (like PPD-tuberculin). The detection of bovine IFN- γ is carried out with a sandwich ELISA that uses two monoclonal antibodies to bovine gamma-interferon. Because the assay makes use of viable blood cells, it is recommended that the blood samples are transported to the laboratory and the assay set up as soon as practical, but not later than the day of blood collection. Based on a meta-analysis of 15 field studies conducted between 1991 and 2006, an estimated median Se of 87.6% (with a range between 73% and 100%) and a Sp of 96.6% (with a range of 85% and 99.6%) is reported. Also, a possible boost of IFN- γ production after skin test is reported in literature. Moreover, infected animals are detected sooner with the IFN- γ test than with the skin test. To conclude, the IFN- γ test is a very promising test but validation of the different kits and antigens must be performed under Belgian field conditions.

There are several **serological tests** for bTB. The ELISA test appears to be the most suitable of the antibody-detection tests and can be complementary to tests based on cellular immunity notably to detect animals that are anergic and do not react to the skin test and IFN- γ anymore. The test is an easy, fast, objective, and cost-effective option for bTB surveillance. However, the Se of the ELISA is low (estimated at 63% with a range between 30% and 97%) while the Sp is estimated at 98% (with a range between 88 and 100%). A boost of antibodies after the skin test (2 weeks) is reported in literature.

A simulation exercise has been performed to calculate the theoretical Se and Sp of different combinations of diagnostic tests. These results can be used by risk managers to obtain the desired Se and Sp for bTB surveillance in the future.

The use of every diagnostic test in non-bovine animals has also been evaluated. In general, it can be concluded that these studies are based on a small number of animals and herds for estimation of the values for Se and Sp and for some species data are still lacking. Hence, the practical use of these tests in other species is currently not advisable.

Finally, all known risk factors for bTB infection in scientific literature are described. These risk factors should be taken into account to allow a risk based surveillance of bTB.

Evaluation of the current bTB surveillance program

A 'scenario tree' analysis has been performed in order to evaluate the sensitivity of the different components of the Belgian bTB surveillance program to prove the official freedom of disease. The outcome of the model (scenarios) was mostly influenced by the following parameters: the number of tested animals per component as well as the used Se for each of the test(s). External validation of the output using a logistic regression model showed that herd tuberculinations (during winter screening) and slaughterhouse post-mortem inspections were significant components to detect outbreaks in Belgium. Considering the low number of positive results, this was not the case for the purchase testing, despite it has been identified as a risk factor for introduction and dissemination of bTB.

Furthermore, a benchmarking study in which the expected number of positive reactors was compared with the actual number of notified reactors clearly shows underreporting during purchase surveillance of bTB. Considering the relatively low declaration of positive or doubtful reactions during tuberculin testing at purchase, its effectiveness in the surveillance program can be questioned. In addition, given the estimated costs of purchase testing of more than 1 million € for 2014, the cost-benefit of the present strategy is questionable.

In conclusion, the efficacy of the current surveillance program, which especially makes use of SIT as first line screening test, can be questioned.

Recommendations

It is recommended to adapt the surveillance program by:

- replacing the SIT test by a combined IFN- γ and a serological test (in parallel) at purchase. In case of positive/doubtful result, it is recommended that the competent authorities execute themselves a SIT as confirmation test;
- maintaining the SIT test performed by the private veterinarian during winter screening. In case of positive/doubtful result, it is recommended that the competent authorities execute themselves an IFN- γ test as confirmation test;
- executing both a SIT (or SICT), IFN- γ and serological tests on all cattle present on the farm in suspected/outbreak herds;
- maintaining the SIT test performed by the private veterinarian during tracing analysis. In case of a positive/doubtful result it is recommended that the competent authorities execute themselves an IFN- γ test as a confirmation test;
- classification of bovine herds and/or individual animals according to their risk for bTB allowing a more targeted surveillance of high risk herds/animals at slaughter.

It is recommended to store epidemiologic data in a centralized FASFC database consultable for all actors involved in the surveillance network and allowing to perform a risk based surveillance based on bTB history.

It is recommended to adapt the control measures and their duration (i.e. blocking of farms) based on indicators allowing to allocate a risk profile to animals and/or herds.

It is recommended to adapt legislation in relation to current and future available diagnostics (e.g. inclusion of nucleic acid recognition methods (RT-PCR), IFN- γ test and serological tests or any other new method). RT-PCR should be used as first line diagnostic (in parallel with bacteriological culture) to allow a faster confirmation of a positive case and to reduce the time a farm is blocked after a positive or doubtful test.

The recent bTB case in an imported alpaca in Belgium shows that vigilance for bTB in non-bovine domesticated animals is very important as they can be a source of introduction. Moreover, there have been some recent bTB in badger, deer and wild boar in France, close to the border with Belgium. Therefore, it is strongly recommended to install a continuous surveillance program in wildlife in Belgium based on known risk factors. For camelids, a surveillance program is also recommended. Furthermore, it is recommended to stimulate the development and validation of diagnostic tests which can be applied in non-bovine domesticated species and wildlife and which can be useful in case these animals are kept on the same farms or in close vicinity to bovines.

It is important to raise awareness of all the actors involved in the bTB surveillance program by regular information and training. Basic biosecurity measures (e.g. quarantine) are too often not (well) applied by cattle farmers in Belgium, although they are very important for bTB prevention. Therefore, farmers and veterinarians must be stimulated to respect these biosecurity measures.

1 Termes de référence

1.1 Contexte et questions posées

Bien que la Belgique soit officiellement indemne de la tuberculose bovine (TBb) depuis 2003, la surveillance de la TBb demeure une tâche importante vu qu'un ou plusieurs foyers sont détectés presque chaque année. D'un point de vue économique, il est très important que la Belgique conserve son statut officiellement indemne afin de pouvoir continuer à garantir un commerce intracommunautaire rapide.

L'évolution épidémiologique dans un certain nombre de pays voisins a montré que, lorsque la vigilance à l'égard de la TBb baisse chez les animaux domestiques, la TBb peut réapparaître. Cette baisse de la vigilance chez les animaux domestiques peut entraîner une propagation de la TBb à la faune sauvage, rendant encore plus difficile le contrôle de la maladie. Des stakeholders ont récemment identifié un certain nombre de difficultés et de problèmes relatifs à leur rôle dans le programme actuel de surveillance de la TBb.

Au vu de ces circonstances, il est demandé au Comité scientifique de réaliser une évaluation approfondie du programme actuel de surveillance de la TBb en Belgique. Les recommandations figurant dans cet avis serviront de base pour les futures adaptations qui seront apportées au programme de contrôle et de surveillance de la TBb. Outre une évaluation générale, un certain nombre de questions spécifiques ont également été posées :

1. Évaluation du programme actuel de surveillance, avec une attention particulière pour les questions suivantes :
 - a. Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération dans le cadre de l'examen post mortem systématique des bovins de boucherie afin d'améliorer la détection des cas de tuberculose ?
 - b. Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation, ...) pourraient être pris en considération lors de la réalisation des tuberculinations à l'achat ? L'analyse par tuberculinations à l'achat, telle que réalisée actuellement par les vétérinaires praticiens, est-elle utile dans le cadre de la surveillance ?
 - c. Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération afin de prendre des mesures proportionnelles en cas de suspicion ?
 - d. Le suivi des animaux laitiers dans les troupeaux dont le lait cru est vendu est-il encore utile dans la situation épidémiologique actuelle ?
 - e. Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation, par ex. : engraissement à titre exclusif, ...) pourraient être pris en considération lors du suivi, via tuberculination d'étable, des anciens foyers, des troupeaux de contact ou des troupeaux suspects, et ce pilier de la surveillance pourrait-il être optimisé ?
 - f. Le risque lié à l'introduction de bovins provenant d'États membres officiellement indemnes avec un nombre important de foyers ou de zones présentant une problématique accrue de tuberculose, est-il plus élevé que lors de l'introduction de bovins issus du commerce national ?
2. Évaluation des méthodes actuelles de diagnostic pour la détection de la tuberculose bovine sur base des caractéristiques de performance analytique et diagnostique des différents tests et d'une utilisation adaptée à la finalité prévue (*fit-for-purpose*) afin de rendre la surveillance la plus efficace possible.
 - a. Tuberculination :
 - i. Faut-il encore accepter la tuberculination comme méthode de référence ou existe-t-il d'autres méthodes de diagnostic qui pourraient la remplacer ?
 - ii. À l'heure actuelle, la tuberculination est obligatoirement effectuée dans la région de l'encolure. Pourrait-on utiliser d'autres emplacements sur l'animal afin de rendre la tuberculination plus facile à effectuer dans la pratique ? (par ex. base de la queue, sillon interfessier, ...).

- iii. Dans les conditions d'exploitation actuelles, où les troupeaux bovins deviennent de plus en plus grands, où les animaux sont en permanence en liberté et où l'on procède de moins en moins à leur immobilisation de manière générale, est-il encore possible de réaliser les tuberculinations *secundem artem* ? Existe-t-il des installations modernes permettant d'immobiliser suffisamment les animaux de manière à pouvoir réaliser correctement la tuberculination et la lecture de celle-ci ?
 - iv. La sensibilité et la spécificité de la tuberculination intradermique sont-elles influencées par le type de seringue à tuberculine (seringue à tuberculine classique, dermojet) ?
 - v. La tuberculine utilisée actuellement, produite à base d'un isolat « historique », est-elle encore adaptée à la détection des mycobactéries actuelles ?
 - vi. Chez quelles espèces animales autres que l'espèce bovine la tuberculination peut-elle être appliquée ?
 - b. La méthode de culture actuelle pourrait-elle être optimisée afin d'accélérer la croissance de *Mycobacterium bovis* et d'obtenir plus rapidement une infirmation ou une confirmation, au moyen d'une croissance bactérienne avec isolement et identification ?
 - c. Les caractéristiques d'analyse des PCR actuelles suffisent-elles pour une utilisation en tant que test de dépistage ou de confirmation sans devoir attendre les résultats de la culture ?
 - d. Test de détection de l'interféron gamma (IFN- γ)
 - i. Les caractéristiques d'analyse de ce test suffisent-elles pour une utilisation en routine dans les conditions belges, en remplacement de la tuberculination ?
 - ii. Le test IFN- γ pourrait-il être utilisé comme test de dépistage en cas de tuberculinations de troupeau répétées avec résultats défavorables, qui ne peuvent cependant pas être confirmées au moyen d'une culture ?
 - iii. Les caractéristiques d'analyse de ce test suffisent-elles pour une utilisation comme test de confirmation à la suite d'un résultat défavorable à la tuberculination ?
 - iv. Quel(s) antigène(s) spécifique(s) faut-il utiliser ?
 - v. Ce test peut-il être utilisé en série ou en parallèle comme test de confirmation en cas de résultat défavorable à la tuberculination ?
 - vi. Chez quelles espèces animales autres que l'espèce bovine ce test peut-il être utilisé ?
 - e. Les tests ELISA « anticorps » disponibles sur le marché peuvent-ils être utilisés de manière judicieuse en Belgique ?
 - f. L'arbre de décision, avec utilisation de la tuberculination et du test de détection de l'interféron gamma, peut-il être validé ?
3. Évaluation des propositions de modification de l'actuel arrêté royal du 17 octobre 2002 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine :
 - a. Ajout de la notification obligatoire des *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis* chez les espèces animales autres que l'espèce bovine. En cas de constatation chez d'autres espèces animales (chiens, chats, ovins, caprins, animaux exotiques, animaux sauvages, autres animaux domestiques, animaux de zoo (éléphants)), des mesures doivent-elles être prises, notamment si des bovins sont détenus dans la même exploitation ?
 - b. Ajout éventuel d'autres mycobactéries que *Mycobacterium bovis*, qui est la seule actuellement prévue dans l'arrêté : *M. caprae*, *M. tuberculosis* ou autres mycobactéries.

- c. Fusionnement des définitions de 'suspecté d'être atteint' et de 'suspecté d'être contaminé'.
 - d. Propositions de mesures proportionnelles en cas de suspicion au niveau individuel et au niveau du troupeau, basées sur l'enquête épidémiologique et sur une évaluation des risques.
 - e. Diagnostic : prévoir les dispositions légales pour l'utilisation du test de détection de l'interféron gamma, de la PCR et de techniques moléculaires pour le profilage génétique.
 - f. Adaptation et clarification de l'âge minimal pour la tuberculination à l'achat et pour la tuberculination d'étable.
 - g. Adaptation des piliers de la surveillance avec une attention particulière pour les tuberculinations à l'achat.
4. Évaluation du plan d'action relatif à la tuberculose.

En guise de réponse aux questions posées, le Comité scientifique a écrit un avis détaillé en anglais. L'avis rédigé en français ci-dessous est une version réduite de ce dernier et donne une réponse succincte aux questions posées. Le lecteur intéressé qui souhaite des informations complémentaires peut être renvoyé vers cet avis rédigé en anglais (**voir l'annexe I**).

1.2 Méthodologie

L'évaluation du programme de surveillance de la TBb se base sur des exercices de simulation (analyse 'scenario tree' afin d'évaluer la sensibilité de chaque composante du programme de surveillance), une étude de benchmarking qui compare le nombre attendu d'animaux positifs avec le nombre réel d'animaux positifs et une estimation des coûts directs et indirects de la surveillance.

De plus, cet avis comprend une évaluation des techniques de diagnostic existantes pour la TBb et les facteurs de risque dont il faut tenir compte pour la surveillance de la maladie. Cette évaluation se base à la fois sur les connaissances disponibles dans la littérature scientifique et sur l'opinion d'experts.

Enfin, un certain nombre de recommandations concernant la surveillance de la TBb ont été proposées. La pertinence de ces recommandations a été évaluée par des experts.

Considérant les discussions menées lors des réunions du groupe de travail des 26/08/2015, 01/10/2015, 22/10/2015, 16/11/2015, 05/01/2016 et 16/02/2016, et durant les séances plénières du Comité scientifique des 23/10/2015, 18/03/2016, 22/04/2016 et 17/06/2016,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

2 Introduction

La tuberculose bovine (TBb) est une maladie infectieuse transmissible à l'homme causée par la bactérie *Mycobacterium bovis*, qui touche les bovins et autres animaux domestiques ainsi que la faune sauvage. La TBb est une zoonose et l'homme est essentiellement exposé à la maladie par le biais de la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru, ou par le biais d'un contact avec des animaux (aérosol). La TBb est une maladie à notification obligatoire.

La maladie se caractérise par la formation de granulomes nodulaires, aussi connus sous le nom de tubercules. Chaque organe peut être affecté, la plupart des lésions sont constatées dans les

ganglions lymphatiques (surtout au niveau de la tête et du thorax), les poumons, les viscères, le foie, la rate, la plèvre et le péritoine.

Dans de nombreux cas, l'infection revêt un caractère chronique et les symptômes sont absents, et ce même pour les cas les plus avancés où l'on constate l'infection de nombreux organes. Lorsqu'ils apparaissent, les symptômes cliniques sont variables : l'infection des poumons peut être caractérisée par une toux, potentiellement induite par des changements de température et une pression sur la trachée. La dyspnée et autres symptômes de pneumonie peu sévère sont également des signes d'infection pulmonaire. Dans les cas les plus avancés, les ganglions lymphatiques touchés sont souvent très hypertrophiés et peuvent obstruer les voies respiratoires, le tractus digestif ou les vaisseaux sanguins. L'infection des ganglions lymphatiques au niveau de la tête ou de l'encolure est souvent apparente, et susceptible de provoquer une rupture et un écoulement. L'implication du tractus digestif peut se manifester par une diarrhée intermittente et une constipation. Une émaciation extrême et une détresse respiratoire aiguë peuvent apparaître au cours des phases terminales de la tuberculose. Des lésions de l'appareil génital femelle peuvent se présenter. L'appareil génital mâle est rarement atteint.

Lors de l'autopsie, les tubercules sont le plus fréquemment observés dans les ganglions lymphatiques, bronchiques, médiastinaux, rétropharyngiens et de la veine porte. En plus, les poumons, la rate et les surfaces des cavités du corps sont souvent infectés. Les lésions nodulaires pulmonaires à un stade précoce peuvent souvent être détectées au moyen de la palpation. D'autres endroits au niveau du corps peuvent aussi être infectés et doivent être examinés.

3 Mesures actuelles en Belgique concernant la TBb

La surveillance de la TBb consiste principalement en une surveillance clinique passive et une série de tests diagnostiques de routine s'appuyant sur les 4 piliers suivants :

- 1) Un examen post mortem systématique des bovins de boucherie (inspection visuelle et palpation/incision des organes/ganglions lymphatiques) ;
- 2) Une tuberculation individuelle ou d'étable dans le cadre du suivi et du traçage (*tracing back* et *tracing forward*) d'une suspicion ou d'un foyer ;
- 3) Campagne hivernale :
 - a. Un suivi systématique des foyers et des troupeaux de contact potentiels pendant 5 années consécutives, au moyen de tuberculinations au cours de la période de stabulation ;
 - b. Une tuberculation d'étable pour les troupeaux dont le lait est destiné à la vente directe de lait cru et/ou de préparations à base de lait cru ;
 - c. Un suivi répété des bovins introduits depuis les États membres non officiellement indemnes de tuberculose au moyen de tuberculinations pendant 3 années consécutives ;
- 4) Une tuberculation obligatoire lors de l'achat de bovins.

4 Évaluation des tests diagnostiques actuels pour la détection de TBb

Le Comité scientifique a réalisé une étude approfondie de la littérature afin de caractériser et d'évaluer les différentes techniques de diagnostic de la TBb susceptibles d'être utilisées en Belgique dans le cadre de la surveillance de la TBb (voir l'annexe I pour plus de détails).

Le test intradermique, aussi appelé « épreuve d'hypersensibilité retardée », consiste en l'injection intradermique de dérivés protéiques purifiés (*purified protein derivative*, PPD) de tuberculine bovine et en la détection, 72 heures plus tard, d'un éventuel gonflement (hypersensibilité retardée) au niveau du site d'injection. Ce test peut être effectué à l'aide de tuberculine bovine uniquement (*single intradermal test*, SIT) ou, à titre de comparaison, à l'aide de tuberculine à la fois aviaire et

bovine (*single intradermal comparative test, SICT*) ce qui permet de distinguer une infection causée par *M. avium* d'une infection causée par *M. bovis*. La littérature mentionne une forte variation en termes de sensibilité (*Se*) et de spécificité (*Sp*) du test : *Se* se situe entre 53% (27.3-81.5, 95% CI) et 69.4% (40.1-92.2, 95% CI) ; *Sp* se situe entre 55.1% et plus de 99%, avec une valeur médiane supérieure à 95%. Un grand nombre de paramètres techniques et socio-économiques peuvent en effet influencer les résultats du test intradermique.

L'isolement de *M. bovis* au moyen d'une culture bactérienne constitue la méthode de référence pour le diagnostic de la TBb. En vertu de la législation belge actuelle, l'isolement de la bactérie constitue la seule preuve définitive permettant de confirmer un foyer. Néanmoins, la culture bactérienne prend énormément de temps et peut durer de 8 à 12 semaines. Il existe des méthodes permettant d'obtenir des résultats plus rapidement (dans les 2 à 3 semaines), mais celles-ci ne sont pas validées en médecine vétérinaire. Aucun protocole de référence n'est décrit dans la littérature ni dans les manuels de référence en ce qui concerne la culture de mycobactéries. Il est dès lors nécessaire que le protocole appliqué pour la culture de mycobactéries soit validé dans chaque laboratoire. Le développement de nouveaux milieux bactériens ou de nouvelles méthodes doit toujours s'inscrire dans la perspective de l'élaboration de **méthodes moléculaires** (PCR en temps réel). Les méthodes moléculaires donnent en principe toujours un résultat plus rapide que la culture bactériologique.

Il existe plusieurs méthodes moléculaires permettant de détecter *M. bovis*. Néanmoins, la meilleure méthode moléculaire en termes de *Se* et de *Sp* est la PCR en temps réel (RT-PCR) : *Se* 87% et *Sp* 97%. Cette méthode permet d'établir rapidement un diagnostic de qualité de la TBb. C'est pourquoi, il est recommandé d'envisager la méthode RT-PCR comme test officiel pour le diagnostic de la TBb. L'isolement de *M. bovis* demeure toutefois pertinent pour permettre le typage moléculaire des souches ainsi que l'enquête épidémiologique.

Le **test interféron gamma** mesure la libération de la lymphokine interféron gamma (IFN- γ) à l'aide de lymphocytes incubés dans un système de culture de sang total, conjointement avec un antigène spécifique (comme la tuberculine PPD), pendant 16 à 24 heures. L'IFN- γ bovin peut être détecté grâce à la méthode sandwich ELISA, par le biais de deux anticorps monoclonaux dirigés contre l'IFN- γ bovin. Étant donné que le test utilise des cellules sanguines vivantes, les échantillons sanguins doivent arriver au laboratoire dans les plus brefs délais, et certainement pas plus tard que le jour du prélèvement. Sur la base d'une méta-analyse de 15 études de terrain réalisées entre 1991 et 2006, la valeur médiane de *Se* est estimée à 87,6% (avec une dispersion allant de 73% à 100%) et la *Sp* à 96,6% (avec une dispersion allant de 85% à 99,6%). La littérature évoque également une possible stimulation de la production d'IFN- γ suite à un test intradermique. Le test IFN- γ permet en outre de détecter les animaux infectés à un stade d'infection plus précoce que le test intradermique. En conclusion, on peut dire que le test IFN- γ est très prometteur, mais que les différents kits et antigènes doivent être validés dans les conditions rencontrées sur le terrain en Belgique.

Il existe différents **tests sérologiques** pour la TBb. Parmi les différents tests de détection d'anticorps, le test ELISA semble le plus approprié. Ce test est complémentaire aux tests basés sur l'immunité cellulaire, en particulier pour la détection des animaux anergiques, qui ne réagissent plus au test intradermique ou au test IFN- γ . Le test ELISA est une option facile, rapide, objective et économique dans le cadre de la surveillance de la TBb. Néanmoins, la *Se* du test ELISA est faible (valeur estimée à 63% avec une dispersion allant de 30% à 97%), tandis que la *Sp* est estimée à 98% (avec une dispersion allant de 88% à 100%). Une résurgence de la production d'anticorps a été rapportée suite à la réalisation du test intradermique (après 2 semaines).

Un exercice de simulation a été réalisé afin de calculer les *Se* et *Sp* théoriques des différentes combinaisons de tests diagnostiques. Ces résultats peuvent être utilisés par les gestionnaires de risques afin d'obtenir les *Se* et *Sp* souhaitées dans le cadre de la surveillance future de la TBb.

L'utilisation de chacun des tests diagnostiques mentionnés chez d'autres animaux que les bovins a également été évaluée. En règle générale, on peut conclure que ces études sont basées sur un petit nombre d'animaux ou de troupeaux pour l'estimation des Se et Sp , et que les informations nécessaires font même défaut pour certaines espèces. Par conséquent, l'utilisation pratique de ces tests chez d'autres animaux que les bovins n'est actuellement pas recommandée.

5 Évaluation du programme actuel de surveillance de la TBb en Belgique

5.1 Analyse 'scenario tree'

Welby et al. (2012) ont réalisé une analyse 'scenario tree' avec pour objectif d'évaluer la sensibilité des différentes composantes du programme belge de surveillance de la TBb afin de prouver l'absence de TBb avec une prévalence maximale de 0,1% au niveau du troupeau. Dans cette étude, la fiabilité des tests dans le cadre de la démonstration de l'absence de TBb s'est avérée être de 83%, 85%, 99% et 99% respectivement pour : i) la simple tuberculination d'étable au cours de la campagne hivernale, ii) les tests uniquement effectués sur les bovins importés, iii) les tests effectués sur tous les bovins achetés et iv) les tests effectués sur tous les animaux abattus. Les résultats de ce modèle (scénarios) ont surtout été influencés par les paramètres suivants : le nombre d'animaux testés par composante (plus il y en a, mieux c'est) et la sensibilité du test utilisé. À l'aide d'une validation externe de ces résultats sur la base d'un modèle de régression logistique (reprenant les données des 5 dernières années), la même étude a en outre révélé que la tuberculination d'étable lors de la campagne hivernale et l'inspection post mortem à l'abattoir constituaient des éléments importants pour la détection de foyers en Belgique. Ce n'était pas le cas de la surveillance lors de l'achat, étant donné que celle-ci pouvait même être identifiée comme un facteur de risque d'infection.

Welby et al. (2012) ont conclu qu'en réalité, les hypothèses ayant servi dans l'analyse 'scenario tree' (tous les tests et animaux ont été effectués/testés selon les directives) ne s'avéraient pas toujours correctes. Les constatations de ces dernières années révèlent que la surveillance lors de l'achat (dans sa forme actuelle) ne semble pas efficace pour la détection (précoce) des foyers de TBb en Belgique. Le Comité scientifique estime toutefois que la surveillance lors de l'achat constitue en principe un bon instrument pour la détection précoce des maladies animales en général et de la TBb en particulier (Humblet et al., 2010). Tout test pour la TBb effectué correctement lors de l'achat peut en effet fournir des informations sur une potentielle voie d'introduction de la TBb, d'autant plus que le commerce/les mouvements d'animaux sont considérés comme d'importants facteurs de risque (Welby et al., 2012 ; Humblet et al., 2009 ; Gilbert et al., 2005).

5.2 Nombre attendu de réactions faussement et réellement positives

Une autre manière d'évaluer l'efficacité d'un programme de surveillance consiste à calculer le nombre attendu de (fausses) réactions positives dans une population indemne de TBb, compte tenu de la sensibilité et de la spécificité des tests diagnostiques utilisés dans le programme de surveillance et de le comparer au nombre réel de réactions positives.

Welby et al. (2015) ont réalisé une telle étude pour les différentes composantes du programme de surveillance de la TBb. La comparaison entre le nombre de réactions positives attendu et le nombre de réactions positives réellement enregistré (voir l'annexe I pour plus de détails) a clairement révélé un sous-rapportage au niveau de la surveillance lors de l'achat.

5.3 Estimation des coûts directs et indirects de la surveillance de la TBb

Le Comité scientifique a estimé les coûts directs et indirects liés à la surveillance de la TBb en Belgique (voir tableau 18 de l'annexe I pour plus de détails).

Vu le nombre relativement bas de réactions positives ou douteuses obtenues à la suite d'un test intradermique réalisé lors de l'achat, l'efficacité de cette composante du programme de surveillance

peut être remise en question. En outre, les coûts liés à la surveillance lors de l'achat sont estimés à plus de 1 000 000 € pour 2014. Par conséquent, dans sa forme actuelle, la surveillance lors de l'achat semble également être une stratégie peu économique.

De 2008 à 2015, aucun foyer n'a été détecté à la suite d'un test intradermique réalisé lors de l'achat. Ces foyers ont en revanche été détectés à l'abattoir ou, après analyses *tracing-back* et *tracing-on*, dans les exploitations de contact avec introduction de bovins provenant de foyers qui semblaient négatifs suite à un test intradermique réalisé dans le cadre de la surveillance lors de l'achat. En outre, la prévalence souvent élevée de bovins positifs dans les foyers nouvellement détectés et l'évolution plutôt chronique de la maladie (lésions généralisées sur les organes et les carcasses, et bovins infectés de manière latente) suscitent de sérieux doutes quant à l'efficacité de la surveillance lors de l'achat dans sa forme actuelle. En outre, les coûts indirects élevés entraînés par un foyer détecté à un stade avancé (estimés à 1 500 000 €) et le fait que la sensibilité de l'inspection post mortem à l'abattoir ne soit pas de 100% indiquent clairement que le programme de surveillance doit être adapté afin de réduire les coûts et d'accroître l'efficacité et la vigilance.

5.4 Conclusion

Une analyse 'scenario tree' a été réalisée afin d'évaluer la sensibilité des différentes composantes du programme belge de surveillance de la TBb. Il a été démontré que les tuberculinations au cours de la période de stabulation réalisées lors de la campagne hivernale et les inspections post mortem à l'abattoir constituaient des éléments importants pour la détection des foyers de TBb en Belgique. Vu le peu de résultats positifs, ce n'était pas le cas de la surveillance lors de l'achat. Celle-ci s'est même révélée être un facteur de risque d'introduction et de propagation de la TBb. Une étude de benchmarking a en outre révélé un net sous-rapportage au niveau de la surveillance lors de l'achat. Étant donné qu'aucun foyer n'a été détecté suite à la tuberculination à l'achat ces dernières années, et vu les coûts associés à cette composante de la surveillance (estimés à plus de 1 000 000 € en 2014), l'efficacité de ce test peut être remise en question.

En conclusion, on peut s'interroger sur l'efficacité du programme actuel de surveillance, qui repose principalement sur le test intradermique (tuberculination).

6 Réponse aux différentes questions formulées dans les termes de référence

6.1 Évaluation du programme actuel de surveillance :

6.1.1 Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération lors de l'examen post mortem systématique des bovins de boucherie afin d'améliorer la détection des cas de tuberculose ?

Bien que l'inspection post mortem à l'abattoir soit un élément important et efficace du programme de surveillance en Belgique (voir l'analyse 'scenario tree' à l'annexe I), le nombre attendu de lésions suspectes dépasse le nombre mentionné en réalité (voir étude de benchmarking à l'annexe I).

Le Comité scientifique a dressé une liste de tous les facteurs de risque importants pour la surveillance de la TBb (voir Tableau 1). Il est recommandé d'établir, sur base de ces facteurs de risque, une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels selon le risque de TBb qu'ils/elles présentent afin de permettre une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque dans l'abattoir. Pour y parvenir, il est important de conserver les données épidémiologiques dans une banque de données centrale consultable par tous les acteurs du réseau de surveillance.

Tabel 1. Facteurs de risque importants décrits dans la littérature scientifique (Humblet et al., 2009)

Niveau	Facteur de risque d'infection/de propagation	Source
Animal	<ul style="list-style-type: none"> • Race/Génétique[^] • Sexe[^] • Âge 	Bekara et al., 2016 ; Guta S, et al., 2014 ; Humblet et al.,

	<ul style="list-style-type: none"> Alimentation à base de lait/colostrum Malnutrition Immunosuppression/médicaments Limitations des tests diagnostiques*^ 	2009 ; Schiller et al., 2010 ; Welby et al., 2015
Troupeau	<ul style="list-style-type: none"> Historique de la TBb*^ Climat (influence sur la persistance des mycobactéries dans le milieu) Contact avec un réservoir domestique infecté (bovin, caprin, ovin, chien, chat)^ Contact avec la faune sauvage (renard, blaireau, cerf, sanglier)^ Prairie partagée Importation de camélidés pour lesquels l'efficacité des tests diagnostiques est faible Densité des espèces animales sensibles*^ Taille du troupeau*^ Management/Biosécurité^ Contacts humains réduits Type d'exploitation*^ Contact entre bovins Mouvements/achat*^ Fréquence de test réduite/services vétérinaires réduits* Mesures de contrôle limitées (dépopulation partielle vs complète) Fausse réactions négatives (anergie ou stress) Exclusion de certains groupes de bovins des tests diagnostiques (ex. âgés de moins de 6 semaines, etc.) 	Adkin et al., sous presse ; Bekara et al., 2016 ; Conlan et al., 2012 ; Guta S, et al., 2014 ; Humblet et al., 2009, 2010 ; Welby et al., 2012
Pays	<ul style="list-style-type: none"> Absence de données épidémiologiques au niveau de l'animal*^ Enregistrement/centralisation/participation insuffisant(e) des données épidémiologiques*^ Obstacles au blocage des exploitations/régions infectées*^ Baisse de la vigilance et du nombre de déclarations (entre autres par peur des mesures répressives) 	EFSA, 2014 ; Elbers et al., 2010 ; Guta et al., 2014 ; Jansen et al., 2012 ; Lupo et al., sous presse ; More et al. 2015
Global	<ul style="list-style-type: none"> Prévalence TBb Mouvements internationaux et interrégionaux : commerce intracommunautaire, import/export pays tiers Translocation de la faune sauvage 	Humblet et al., 2009

* Facteurs de risque identifiés spécifiquement en Belgique

^ Principaux facteurs de risque identifiés en Belgique et confirmés ailleurs (Adkin et al., sous presse ; Bekara et al., 2016 ; Humblet et al., 2009 ; Schiller et al., 2010 ; Welby et al., 2012)

6.1.2 *Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation...) pourraient être pris en considération lors de la réalisation des tuberculinations à l'achat ? L'analyse par tuberculination à l'achat, telle que réalisée actuellement par les vétérinaires praticiens, est-elle utile dans le cadre de la surveillance ?*

Comme déjà mentionné, la performance de la surveillance actuelle au moyen d'un test intradermique (tuberculination) lors de l'achat n'est pas suffisante. Il est dès lors recommandé de remplacer le test intradermique par un test combiné IFN- γ et sérologique (en parallèle) lors de l'achat.

Cette approche présente un certain nombre d'avantages. Le vétérinaire ne doit effectuer qu'une seule visite d'exploitation et ne doit pas retourner à l'exploitation trois jours plus tard pour évaluer le résultat du test intradermique. En outre, le prélèvement d'un échantillon sanguin (dans la veine caudale) est souvent plus sûr et plus pratique à réaliser dans les conditions d'exploitation actuelles, où de plus en plus de bovins sont rarement immobilisés. En cas de suspicion, les vétérinaires d'exploitation rencontrent en outre un conflit d'intérêts lorsqu'il s'agit de notifier l'exploitation suspecte aux autorités compétentes. Dans le cas d'un échantillon sanguin, bien que celui-ci soit toujours prélevé par le vétérinaire d'exploitation, l'analyse et l'interprétation du premier résultat se font dans un laboratoire. Enfin, combiner le test IFN- γ avec un test sérologique permet tant la détection précoce d'animaux positifs (test IFN- γ) que la détection d'animaux au dernier stade de la maladie (test sérologique). Souvent, en raison de l'absence d'une réaction immunologique appropriée (anergie), le test IFN- γ et le test intradermique ne permettent plus de détecter les animaux qui sont au dernier stade de la maladie.

Indépendamment du test qui sera utilisé dans le cadre de la surveillance lors de l'achat, il est recommandé d'établir, sur base des facteurs de risque connus (voir Tableau 1), une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels selon le risque (d'introduction) de (la) TBb qu'ils/elles présentent afin de permettre une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque.

6.1.3 Quels facteurs de risque pourraient être pris en considération afin de prendre des mesures proportionnelles en cas de suspicion ?

Comme mentionné plus haut, il est recommandé d'établir, sur base des facteurs de risque connus (voir Tableau 1), une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels selon le risque de TBb qu'ils/elles présentent. De même, lors de la prise de mesures à la suite d'une suspicion, il est recommandé de tenir compte du profil de risque des exploitations/bovins individuels (instauration de mesures proportionnelles).

6.1.4 Le suivi des animaux laitiers dans les troupeaux dont le lait est destiné à la vente de lait cru est-il encore utile dans la situation épidémiologique actuelle ?

La consommation de lait cru est la principale source d'infection par la TBb pour l'homme de manière générale (OIE, 2009). En outre, il a déjà été démontré plus haut que la TBb peut parfois rester longtemps inaperçue au sein d'une exploitation et que l'efficacité du programme actuel de surveillance n'est pas toujours suffisante. Du point de vue de la santé publique, il est par conséquent vivement recommandé de continuer à suivre de près les exploitations qui vendent du lait cru.

6.1.5 Quels facteurs de risque (âge, catégorie animale, type d'exploitation, par ex. engraissement à titre exclusif...) pourraient être pris en considération lors du suivi, via tuberculination au cours de la période de stabulation, des anciens foyers, des troupeaux de contact et des troupeaux suspects, et ce pilier de la surveillance pourrait-il être optimisé ?

Comme mentionné plus haut, il est recommandé d'établir, sur base des facteurs de risque connus (voir Tableau 1), une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels selon le risque de TBb qu'ils/elles présentent afin de permettre une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque.

6.1.6 Le risque lié à l'introduction de bovins provenant d'États membres officiellement indemnes avec un nombre important de foyers ou de zones présentant une problématique accrue de tuberculose, est-il plus élevé que lors de l'introduction de bovins issus du commerce national ?

Le risque d'introduction de bovins positifs à la TBb dépend principalement de la situation épidémiologique du pays ou de la région de provenance. De nouveau, il est recommandé d'établir, sur base des facteurs de risques connus (voir Tableau 1), une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels selon le risque de TBb qu'ils/elles présentent afin de permettre une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque. Si les informations utiles à cette

classification ne sont pas disponibles pour les bovins provenant d'autres États membres, il est opportun, par précaution, de soumettre ces bovins à un contrôle renforcé.

6.2 Évaluation des méthodes actuelles de diagnostic pour la détection de la tuberculose bovine sur base des caractéristiques de performance analytique et diagnostique des différents tests et d'une utilisation adaptée à la finalité prévue ('fit-for-purpose') afin de rendre la surveillance la plus efficace possible.

6.2.1 Test intradermique (tuberculination) :

6.2.1.1 Faut-il encore accepter la tuberculination comme méthode standard ou existe-t-il d'autres méthodes de diagnostic pouvant remplacer la tuberculination ?

Cela fait déjà longtemps que le test intradermique (tuberculination) est la méthode standard de détection de la TBb. Ce test consiste en l'injection intradermique de dérivés protéiques purifiés (*purified protein derivative*, PPD) de tuberculine bovine et en la détection, 72 heures plus tard, d'un éventuel gonflement (hypersensibilité retardée) au niveau du site d'injection. La littérature mentionne une forte variation en termes de sensibilité (*Se*) et de spécificité (*Sp*) du test : *Se* se situe entre 53% (27.3-81.5, 95% CI) et 69.4% (40.1-92.2, 95% CI) ; *Sp* se situe entre 55.1% et plus de 99%, avec une valeur médiane qui dépasse les 95%. Un grand nombre de paramètres techniques et socio-économiques peuvent en effet influencer les résultats du test intradermique.

Bien que le test intradermique demeure un très bon test pour la détection de la TBb s'il est effectué dans les règles de l'art, il est recommandé de recourir également au test IFN- γ et au test ELISA dans le cadre de la surveillance de la TBb en Belgique. Pour plus de détails concernant ces 2 tests, il peut être fait référence au paragraphe 4 et à l'annexe I.

6.2.1.2 À l'heure actuelle, la tuberculination est obligatoirement effectuée dans la région de l'encolure. Pourrait-on utiliser d'autres emplacements sur l'animal afin de rendre la tuberculination plus facile à effectuer dans la pratique ? (par ex. la base de la queue, le sillon interfessier...)

Traditionnellement, le test intradermique se fait au niveau de l'encolure ou à hauteur de la base de la queue. Aux États-Unis, au Canada et en Nouvelle-Zélande, le test intradermique se fait à hauteur de la base de la queue pour des raisons pratiques dans les grandes exploitations bovines (Casal et al., 2015), tandis que l'on préfère l'encolure dans les plus petites exploitations en Europe (directive UE 64/432/CEE).

Selon la littérature scientifique l'injection à hauteur de la base de la queue entraîne une sensibilité du test plus basse que l'injection dans l'encolure (Francis et al., 1978 ; Whipple et al., 1995 ; Norby et al., 2004 ; Farnham et al., 2012). En outre, une étude de terrain (Casal et al., 2015) a démontré que la probabilité de détecter un animal avec réaction positive était influencée par la partie de l'encolure où le test intradermique était effectué. La sensibilité était plus élevée dans les régions crâniennes que dans les régions caudales. Ce phénomène peut s'expliquer par la plus grande proximité des nœuds lymphatiques régionaux (sous-mandibulaires, rétropharyngiens, parotidiens et cervicaux) dans les régions crâniennes que dans les régions caudales, ce qui peut entraîner un influx cellulaire renforcé au niveau du site d'injection et, par conséquent, une réaction locale plus marquée (Kindt et al., 2006 ; Flynn and Chan, 2001).

Nous pouvons donc conclure que le test intradermique doit être effectué dans les régions crâniennes de l'encolure pour que la sensibilité du test soit aussi élevée que possible.

6.2.1.3 Dans les conditions d'exploitation actuelles, où les troupeaux bovins deviennent de plus en plus grands, où les animaux sont en permanence en liberté et où l'on procède de moins en moins à leur immobilisation de manière générale, est-il encore possible de réaliser les tuberculinations 'secundem artem' ? Existe-t-il des installations modernes permettant d'immobiliser suffisamment les animaux de manière à pouvoir réaliser correctement la tuberculination et la lecture de celle-ci ?

Le Comité scientifique reconnaît les difficultés pratiques rencontrées par les vétérinaires et les collaborateurs de terrain lorsqu'ils effectuent des tests diagnostiques sur des bovins qui ne sont pas (correctement) immobilisés, en particulier lors du test intradermique (comparatif) (à hauteur de l'encolure). Il existe néanmoins suffisamment de systèmes d'immobilisation des bovins sur le marché (voir Dudouet (2015) pour quelques exemples). Il faut encourager les éleveurs de bovins à prévoir de tels systèmes d'immobilisation dans les exploitations afin de permettre au vétérinaire de travailler dans des conditions sûres et pratiques.

Néanmoins, la recommandation visant à remplacer le test intradermique lors de l'achat par un test combiné IFN- γ et ELISA (voir plus haut) facilitera considérablement l'échantillonnage dans le cadre de la surveillance lors de l'achat, qui représente une part importante du nombre annuel de tests diagnostiques, étant donné que le prélèvement sanguin peut être effectué à la base de la queue.

6.2.1.4 La sensibilité et la spécificité de la tuberculination intradermique sont-elles influencées par le type de seringue à tuberculine (seringue à tuberculine classique, dermojet) ?

Malgré le fait que peu de données soient disponibles dans la littérature scientifique, le Comité scientifique est d'avis que la sensibilité et la spécificité du test intradermique ne sont pas influencées par l'instrument utilisé pour l'injection (seringue classique *versus* dermojet). Les facteurs humains tels que le non-respect des 'bonnes pratiques vétérinaires' au moment de l'exécution et du contrôle du test intradermique ont un impact bien plus grand sur le résultat du test.

6.2.1.5 La tuberculine utilisée actuellement, produite à base d'un isolat « historique », est-elle encore adaptée à la détection des mycobactéries actuelles ?

Les différents PPD (*purified protein derivative*) actuellement utilisés dans les tests diagnostiques ont un grand nombre de protéines en commun qui sont en outre importantes du point de vue de l'infectivité et de la survie des mycobactéries. Ces protéines seront par conséquent probablement conservées (Prada, 2013). De plus, le génome des membres du complexe *M. tuberculosis* est identique à 99,95 % et présente une grande stabilité (Lu et al., 1987; Garnier, 2003). Il s'avère également que l'isolat historique de *M. bovis* utilisé pour la production de PPD de *M. bovis* n'a pas subi de perte significative d'informations génétiques au cours de la culture *in vitro*, en comparaison avec de récents isolats de terrain (Inwald, 2003).

On peut donc en conclure que les PPD « actuels » sont encore tout à fait adéquats pour la détection d'un contact avec une bactérie du complexe *M. tuberculosis*. La principale préoccupation concerne la qualité de production des PPD, plutôt que leur composition (Rangel-Frausto, 2001 ; Schiller, 2010).

6.2.1.6 Chez quelles espèces animales autres que l'espèce bovine la tuberculination peut-elle être appliquée ?

Le Comité scientifique a réalisé une étude détaillée de la littérature pour ce qui concerne l'utilisation du test intradermique chez d'autres espèces animales que les bovins. De manière générale, nous pouvons dire que relativement peu de publications sont disponibles sur ce sujet et que le nombre d'animaux pris en compte dans ces études est assez limité. Davantage de détails à ce sujet sont fournis à l'annexe I, *Appendix V*.

Nous pouvons en conclure que, même si le test intradermique semble bien fonctionner chez les ovins et caprins et chez certains animaux sauvages tels que le cerf, il n'est pas vraiment fiable chez d'autres

espèces telles que les blaireaux, les porcs, les sangliers, les oryx et les grands animaux de zoo ; de plus, il n'est pas pratique à utiliser chez les animaux en liberté.

6.2.2 La méthode de culture actuelle pourrait-elle être optimisée afin d'accélérer la croissance de Mycobacterium bovis et d'obtenir plus rapidement une infirmation ou une confirmation, au moyen d'une croissance bactérienne avec isolement et identification ?

L'isolement de *M. bovis* au moyen d'une culture bactérienne constitue la méthode de référence pour le diagnostic de la TBb. En vertu de la législation belge actuelle, l'isolement de la bactérie constitue la seule preuve définitive permettant de confirmer un foyer. Néanmoins, la culture bactérienne prend énormément de temps et peut durer de 8 à 12 semaines. Il existe des méthodes qui permettent d'obtenir des résultats plus rapidement (dans les 2-3 semaines) mais elles ne sont pas validées en médecine vétérinaire. Le développement de nouveaux milieux bactériens ou de nouvelles méthodes doit toujours s'inscrire dans la perspective de l'élaboration de méthodes moléculaires (PCR en temps réel). Les méthodes moléculaires surpasseront toujours les cultures bactériologiques en termes de rapidité.

6.2.3 Les caractéristiques d'analyse des PCR actuelles suffisent-elles pour une utilisation en tant que test de dépistage ou de confirmation sans devoir attendre les résultats de la culture ?

Il existe plusieurs méthodes moléculaires permettant de détecter *M. bovis*, p.ex. dans des ganglions lymphatiques infectés. La meilleure méthode moléculaire en termes de *Se* et de *Sp* est la PCR en temps réel (RT-PCR) : *Se* 87% et *Sp* 97%. Cette méthode est une bonne option pour pouvoir établir un diagnostic rapide et de qualité de la TBb. C'est pourquoi, il est recommandé d'envisager la méthode RT-PCR comme test officiel pour le diagnostic de la TBb. L'isolement de *M. bovis* demeure toutefois pertinent pour permettre le typage moléculaire des souches ainsi que l'enquête épidémiologique.

6.2.4 Test de détection de l'interféron gamma (IFN- γ)

6.2.4.1 Les caractéristiques d'analyse du test IFN- γ suffisent-elles pour une utilisation en routine dans les conditions belges, en remplacement de la tuberculination ?

Comme déjà mentionné plus haut, l'étude de la littérature a démontré que le test IFN- γ obtient au moins d'aussi bons résultats que le test intradermique en termes de sensibilité. En fonction de la source et des conditions dans lesquelles le test est appliqué, on estime que la spécificité de ce test est tout aussi élevée, voire inférieure, à celle du test intradermique. Cependant, le test IFN- γ permet de détecter les animaux infectés à un stade d'infection plus précoce que le test intradermique. Un inconvénient potentiel de ce test est qu'il utilise des cellules sanguines vivantes, il est dès lors recommandé que les échantillons sanguins parviennent au laboratoire le plus vite possible et certainement pas plus tard que le jour même de l'échantillonnage. En conclusion, on peut dire que le test IFN- γ est très prometteur mais que les différents kits et antigènes doivent être validés dans les conditions rencontrées sur le terrain en Belgique avant que le test ne puisse être utilisé à grande échelle. Concrètement il est recommandé de remplacer le test intradermique par un test IFN- γ , à utiliser dans le cadre de la surveillance et lors de l'achat d'animaux.

6.2.4.2 Le test IFN- γ pourrait-il être utilisé comme test de dépistage lorsque des tuberculinations au cours de la période de stabulation sont positives à plusieurs reprises (avec résultat défavorable) mais que la TBb ne peut pas être confirmée au moyen d'une culture ?

Bien que cela soit difficile à prouver, la cause de ce phénomène est probablement le fait que les bovins aient été en contact avec des 'mycobactéries atypiques ou non tuberculeuses' qui présentent des antigènes communs avec *M. bovis*. Ces mycobactéries ne provoquent généralement pas de lésions chez les animaux infectés et présentent peu voire pas de danger pour la santé publique. Les bovins qui se retrouvent en contact avec ces mycobactéries atypiques peuvent réagir positivement aussi bien au test intradermique qu'au test IFN- γ sans pour autant être infectés par *M. bovis* (faux positif).

Etant donné que le test IFN- γ et le test intradermique ont tous les deux recours à des PPD (*purified protein derivative*), ces deux tests généreront des réactions faussement positives en cas de contact avec des mycobactéries atypiques. En fonction de la source et des conditions dans lesquelles le test est appliqué, la spécificité du test IFN- γ est estimée comme étant tout aussi bonne, voire inférieure, à celle du test intradermique. Par conséquent, le test IFN- γ ne constitue pas une bonne alternative dans cette situation spécifique.

Toutefois, de nombreuses recherches scientifiques sont actuellement en cours dans le but d'utiliser des antigènes spécifiques (tels qu'ESAT-6 et CFP-10) dans le cadre du test IFN- γ , ces antigènes se rencontrant uniquement chez *M. bovis* (et autres membres du complexe *M. tuberculosis*) et pas chez les mycobactéries atypiques. Ce qui augmenterait en même temps la spécificité du test IFN- γ . Si ce test IFN- γ basé sur des antigènes spécifiques venait à être commercialisé dans le futur, il est recommandé de l'utiliser dans cette situation spécifique (ainsi que dans le cadre de la surveillance générale de la TBb si la sensibilité de ce test est au moins aussi élevée que celle du test IFN- γ basé sur des PPD).

6.2.4.3 Les caractéristiques d'analyse de ce test IFN- γ suffisent-elles pour une utilisation comme test de confirmation à la suite d'un résultat défavorable à la tuberculination ?

Le test IFN- γ est approprié pour une utilisation en série (en tant que test de confirmation) à la suite du test intradermique si on doute de la spécificité suffisante du test de routine ante mortem. C'est le cas par excellence lorsque le test intradermique est utilisé dans des régions où la probabilité de détecter un animal réellement infecté est faible (comme en Belgique, où on observe une prévalence très basse de *M. bovis* et une prévalence relativement élevée de *M. avium*). Cette stratégie est également appliquée dans différents autres pays de l'UE (voir l'annexe I, *appendix VI*). Concrètement, il est recommandé d'utiliser le test IFN- γ comme test de confirmation dans le cadre de la campagne hivernale et lors d'analyses « tracing-back » et « tracing-on ».

En outre, le Comité scientifique a réalisé un exercice de simulation dans le but de calculer la sensibilité et la spécificité théoriques de différentes combinaisons de tests diagnostiques (voir l'annexe I, tableau 14). Ces résultats peuvent être utilisés par les gestionnaires de risques afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité souhaitées dans le cadre de la future surveillance de la TBb.

6.2.4.4 Quel(s) antigène(s) spécifique(s) faut-il utiliser ?

Les tests IFN- γ actuellement commercialisés ont tous recours à des PPD (dérivés protéiques purifiés issus de *M. bovis* AN5 et *M. avium* D4). Comme déjà mentionné plus haut, la sensibilité de ce test est au moins aussi élevée que celle du test intradermique. En fonction de la source et des conditions dans lesquelles le test est appliqué, la spécificité du test IFN- γ est estimée comme étant tout aussi bonne, voire inférieure, à celle du test intradermique. Il est toutefois très important de valider les différents kits et antigènes dans les conditions rencontrées sur le terrain en Belgique avant que le test ne soit utilisé à grande échelle.

Des recherches scientifiques sont actuellement en cours dans le but d'utiliser des antigènes spécifiques (tels qu'ESAT-6 et CFP-10) dans le cadre du test IFN- γ , ces antigènes se rencontrant uniquement chez *M. bovis* (et autres membres du complexe *M. tuberculosis*) et pas chez les mycobactéries atypiques. Ce qui augmenterait en même temps la spécificité du test IFN- γ . Si ce test IFN- γ basé sur des antigènes spécifiques venait à être commercialisé dans le futur, il est recommandé de l'utiliser dans le cadre de la surveillance générale de la TBb si sa sensibilité s'avère au moins aussi élevée que celle du test IFN- γ basé sur des PPD.

6.2.4.5 Le test IFN- γ peut-il être utilisé en série ou en parallèle comme test de confirmation en cas de résultat défavorable à la tuberculination ?

L'utilisation en parallèle (simultanée) du test IFN- γ et du test intradermique augmentera la sensibilité du protocole de diagnostic, tandis que l'utilisation en série du test IFN- γ (en tant que test de confirmation) à la suite du test intradermique augmentera la spécificité du protocole de diagnostic.

En outre, le Comité scientifique a réalisé un exercice de simulation dans le but de calculer la sensibilité et la spécificité théoriques de différentes combinaisons de tests diagnostiques (voir l'annexe I, tableau 14). Ces résultats peuvent être utilisés par les gestionnaires de risques afin d'obtenir la sensibilité et la spécificité souhaitées dans le cadre de la future surveillance de la TBb.

6.2.4.6 Chez quelles espèces animales autres que l'espèce bovine le test IFN- γ peut-il être utilisé ?

L'utilisation du test IFN- γ est décrite pour différentes espèces domestiques et sauvages. Pour certaines espèces, il est nécessaire d'adapter le protocole dédié à l'espèce bovine. Plus de détails sur l'utilisation du test IFN- γ chez d'autres espèces que l'espèce bovine sont fournis à l'annexe I, *appendix VII*.

Chez certaines espèces, en particulier les caprins, le test IFN- γ présente des résultats prometteurs. Il faut toutefois souligner que le nombre d'études et le nombre d'animaux pris en compte dans ces études pour l'estimation de la sensibilité et de la spécificité sont limités. Par conséquent, l'utilisation concrète du test IFN- γ chez d'autres animaux que les bovins n'est actuellement pas recommandée. Le test doit d'abord être évalué à grande échelle dans des conditions de terrain avant de pouvoir être utilisé dans le cadre d'un programme de surveillance.

6.2.5 Les tests ELISA « anticorps » disponibles sur le marché peuvent-ils être utilisés de manière judicieuse en Belgique ?

Il existe différents tests sérologiques pour la TBb. Parmi les tests de détection d'anticorps, le test ELISA semble le plus approprié. Ce test est complémentaire aux tests basés sur l'immunité cellulaire, en particulier pour détecter les animaux anergiques, qui ne réagissent plus au test intradermique ou au test IFN- γ . Le test ELISA est une option facile, rapide, objective et économique dans le cadre de la surveillance de la TBb. Néanmoins, la sensibilité du test ELISA est faible (valeur estimée à 63% avec une dispersion allant de 30% à 97%), tandis que la spécificité est estimée à 98% (avec une dispersion allant de 88% à 100%). Une stimulation des anticorps a été rapportée suite à la réalisation du test intradermique (après 2 semaines).

Concrètement, il est recommandé d'utiliser le test ELISA pour la surveillance lors de l'achat (parallèlement au test IFN- γ) et dans le cadre de l'enquête épidémiologique réalisée en cas de foyer suspecté ou confirmé, en plus du test intradermique (comparatif) et du test IFN- γ .

6.2.6 L'arbre de décision présenté, incluant l'utilisation de la tuberculination et du test de détection de l'interféron gamma, peut-il être validé ?

Le Comité scientifique apprécie le fait que certaines de ses recommandations (telles que l'utilisation du test IFN- γ) aient déjà été prises en compte dans l'arbre de décision. L'arbre de décision présenté ne peut cependant pas être validé vu que des modifications substantielles devront y être apportées si les recommandations du présent avis venaient à être appliquées pour les différentes composantes du programme de surveillance (voir plus haut).

6.3 Evaluation des propositions de modification de l'actuel arrêté royal du 17 octobre 2002 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine :

6.3.1 Ajout de la notification obligatoire de *Mycobacterium bovis* et de la tuberculose chez les espèces animales autres que l'espèce bovine. En cas de constatation chez d'autres espèces animales (chiens, chats, ovins, caprins, animaux exotiques, animaux sauvages, autres animaux domestiques, animaux de zoo (éléphants)), des mesures doivent-elles être prises, notamment si des bovins sont détenus dans la même exploitation ?

Une étude de la littérature a été réalisée quant aux espèces animales (animaux domestiques et animaux sauvages) sensibles et/ou réceptives à *M. bovis* de par le monde. Les résultats de cette étude sont fournis à l'annexe I, *appendix IX*.

Nous pouvons en conclure que *M. bovis* est capable d'infecter un large éventail d'espèces animales. C'est pourquoi, il est vivement recommandé d'instaurer une notification obligatoire pour toutes les espèces animales, et ce pas uniquement pour *M. bovis* mais aussi pour d'autres membres du

complexe *M. tuberculosis*. Ces espèces animales doivent aussi être prises en considération dans le cas où des mesures sanitaires devraient être mises en place, en particulier si l'espèce animale concernée est susceptible de constituer une source d'infection pour les bovins.

6.3.2 Ajout éventuel d'autres mycobactéries que *Mycobacterium bovis*, qui est la seule actuellement prévue dans l'arrêté : *M. caprae*, *M. tuberculosis* ou autres mycobactéries.

Les membres du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (auquel appartiennent *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. orygis* et *M. mungi*) sont fortement apparentés au niveau génétique (99,9% de similarité au niveau du nucléotide) et sont tous capables de provoquer la tuberculose chez l'homme et chez l'animal (Michelet et al., 2016 ; Rodriguez-Campos, 2014 ; Alexander, 2010 ; Van Ingen, 2012). Pour la TBb aussi, plusieurs publications démontrent l'implication de différents membres du complexe *M. tuberculosis*, à savoir principalement *M. bovis*, *M. tuberculosis* et *M. caprae* (plus de détails sont fournis à l'annexe I, tableau 20).

Pour cette raison, le Comité scientifique soutient la proposition visant à remplacer *Mycobacterium bovis* par le complexe *Mycobacterium tuberculosis* lors de la modification de l'AR. Cet élargissement au complexe *Mycobacterium tuberculosis* a déjà été appliqué précédemment dans d'autres pays (Autriche, Croatie, Pays-Bas, Portugal, Irlande et Espagne) (Rodriguez-Campos, 2014).

6.3.3 Fusionnement des définitions 'suspecté d'être atteint' et 'suspecté d'être contaminé'.

Le Comité scientifique n'est pas en faveur de fusionner les deux définitions car elles reflètent deux situations différentes. La terminologie utilisée prête cependant à confusion et il est dès lors conseillé de l'adapter dans la législation. Les définitions suivantes sont proposées :

- 1) **Exempt de tuberculose** : l'animal appartient à un troupeau officiellement exempt de tuberculose (doit être défini dans l'AR).
- 2) **Suspecté d'être infecté par la tuberculose** : l'animal appartient à l'une des catégories suivantes :
 - Il présente des lésions tuberculeuses macroscopiques au moment de l'inspection post mortem ou de l'autopsie ;
 - Il présente des lésions histologiques révélatrices de la tuberculose ;
 - Il présente un résultat positif à un test de diagnostic de la tuberculose (test intradermique (comparatif), test IFN- γ ou test sérologique), quelles que soient les conditions dans lesquelles le test a été réalisé.
- 3) **Infecté par la tuberculose** : dans les cas suivants :
 - L'animal présente des symptômes cliniques de tuberculose ainsi qu'un résultat positif à un test de diagnostic de la tuberculose (test intradermique (comparatif), test IFN- γ ou test sérologique) ;
 - L'animal chez lequel un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* a été isolé et identifié avec un test diagnostique accrédité ;
 - L'animal chez lequel un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* a été détecté par un test (RT-)PCR accrédité ;
 - L'animal présente un résultat positif à un test de diagnostic accrédité de la tuberculose (test intradermique (comparatif), test IFN- γ ou test sérologique), et un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* a été isolé et identifié chez cet animal avec un test diagnostique accrédité ;
 - L'animal présente un résultat positif à un test de diagnostic accrédité de la tuberculose (test intradermique (comparatif), test IFN- γ ou test sérologique), ainsi que des lésions histologiques typiques de la tuberculose ;
 - L'animal appartient à un troupeau déclaré comme étant infecté par la tuberculose, et relève de l'une des catégories reprises au point 2).
- 4) **En contact avec la tuberculose** : l'animal appartient à un troupeau déclaré comme étant infecté par la tuberculose, et ne relève pas de l'une des catégories reprises au point 3).

6.3.4 Propositions de mesures proportionnelles en cas de suspicion au niveau individuel et au niveau du troupeau, basées sur l'enquête épidémiologique et sur une évaluation des risques.

Comme expliqué plus haut, il est recommandé d'utiliser des facteurs de risque connus (voir tableau 1) de manière à obtenir une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque. De même, lors de la prise de mesures à la suite d'une suspicion, il est recommandé de tenir compte du profil de risque des exploitations/bovins individuels (mesures proportionnelles).

6.3.5 Diagnostic : prévoir les dispositions légales pour l'utilisation du test de détection de l'interféron gamma, de la PCR et de techniques moléculaires pour le profilage génétique.

Il est recommandé de prévoir dans la législation l'utilisation des nouveaux tests de diagnostic, tels que le test IFN- γ , les tests sérologiques, la (RT-) PCR et d'autres techniques moléculaires.

6.3.6 Adaptation et clarification de l'âge minimal pour la tuberculination à l'achat et pour la tuberculination d'étable.

Les veaux de boucherie sont traditionnellement exemptés de tuberculination à l'achat étant donné qu'il est estimé comme peu probable qu'ils soient contaminés par la TBb (réservoir « fermé », les animaux partent directement à l'abattoir après engraissement). Les données récentes d'un foyer survenu en 2015 démontrent cependant que de très jeunes bovins peuvent eux aussi déjà être infectés par la TBb. Le fait de tester les veaux de boucherie lors de l'achat pourrait éventuellement fournir des informations intéressantes sur le statut TBb des exploitations de provenance.

Il est dès lors recommandé de prendre tous les âges en considération dans le cadre de la surveillance lors de l'achat. Lorsqu'une étable entière doit être testée pendant la campagne hivernale, l'âge minimal de 6 semaines peut être maintenu. Dans le cas d'une enquête épidémiologique dans un foyer (suspect), il faut toutefois à nouveau reprendre tous les âges dans le protocole de diagnostic.

Chez les veaux de moins de 6 mois, il est cependant conseillé de réaliser un test intradermique et non un test IFN- γ , ce en raison des réactions aspécifiques. Bien que la cause de ce phénomène ne soit pas tout à fait connue, on sait que les cellules immunitaires $\gamma\delta$ T γ sont pour quelque chose, celles-ci jouant un rôle important dans la réponse immunitaire précoce à l'encontre de *M. bovis*. Ces cellules, aussi bien chez les bovins infectés que non infectés, peuvent proliférer et produire des IFN- γ après stimulation par des antigènes *M. bovis* et, de ce fait, être responsables de réactions aspécifiques (Plattner et al., 2009 ; Plattner and Hostetter, 2011 ; Welsh et al., 2002).

6.3.7 Adaptation des piliers de la surveillance avec une attention particulière pour les tuberculinations à l'achat.

Comme expliqué plus haut, le Comité scientifique propose d'apporter plusieurs modifications au programme actuel de surveillance de la TBb. Ces modifications doivent bien entendu également être prévues dans la législation.

6.4 Évaluation du plan d'action relatif à la tuberculose :

Le Comité scientifique apprécie le fait que certaines de ses recommandations soient déjà mises en application (p.ex. appliquer une vigilance accrue et former davantage les différents acteurs dans la surveillance de la TBb). Il n'est cependant pas possible d'évaluer ce plan d'action dans son intégralité étant donné que les recommandations formulées dans le présent avis nécessiteront des adaptations substantielles de ce plan.

7 Recommandations à l'égard du futur programme de surveillance de la TBb

Il est important d'augmenter la vigilance de tous les acteurs concernés par la surveillance de la TBb à l'aide de formations et d'échanges d'informations réguliers. Des mesures élémentaires de biosécurité (par ex. quarantaine) doivent être appliquées de manière correcte et persistante par les éleveurs de bovins en Belgique, étant donné que celles-ci sont très importantes dans le cadre de la prévention de

la propagation de la TBb. Les éleveurs et les vétérinaires doivent dès lors être régulièrement encouragés à appliquer ces mesures de biosécurité.

Le Comité scientifique recommande d'adapter le programme de surveillance de la TBb :

- en remplaçant le test intradermique (tuberculation) par un test combiné IFN- γ et sérologique (en parallèle) lors de l'achat. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test intradermique à titre de test de confirmation ;
- en conservant le test intradermique, réalisé par des vétérinaires praticiens, pour la campagne hivernale. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test IFN- γ à titre de test de confirmation ;
- en réalisant, en cas de foyer suspecté ou confirmé, un test intradermique (comparatif), un test IFN- γ et un test sérologique chez tous les bovins présents dans l'exploitation.
- en conservant le test intradermique, réalisé par des vétérinaires praticiens, pour l'analyse « tracing back » et « tracing on » après la confirmation d'un foyer. En cas de résultat positif/douteux, il est conseillé que les autorités compétentes réalisent un test IFN- γ à titre de test de confirmation ;
- en établissant une classification des exploitations bovines et/ou des bovins individuels en fonction de leur risque à l'égard de la TBb, afin d'obtenir une surveillance plus ciblée des exploitations/animaux à haut risque au sein de l'abattoir.

Il est recommandé de conserver les données épidémiologiques dans une banque de données centrale de l'AFSCA, consultable par tous les acteurs du réseau de surveillance afin de permettre une surveillance basée sur le risque et tenant compte de l'historique de la TBb.

Il est aussi recommandé d'adapter les mesures de contrôle et leur durée (par ex. : blocage des élevages) sur base des indicateurs qui permettent d'établir un profil de risque des élevages/animaux.

De plus, il est également recommandé d'adapter la législation en fonction des tests de diagnostic actuellement en vigueur ou bientôt disponibles (inclure les méthodes moléculaires (RT-PCR), le test IFN- γ et le test sérologique ou toute autre nouvelle méthode éventuelle). La RT-PCR doit être utilisée pour le diagnostic de première ligne (en parallèle de la culture bactériologique) afin de permettre une confirmation plus rapide d'un cas positif et afin de réduire la durée de blocage d'un élevage après un test positif ou douteux.

Le récent cas de TBb détecté chez un alpaga importé en Belgique (<http://www.favv.be/santeanimale/tuberculose/>) montre que la vigilance à l'égard de la TBb chez les animaux domestiques autres que les bovins est primordiale vu que ces animaux peuvent constituer une source d'introduction de la maladie. En outre, des cas de TBb ont récemment été notifiés en France chez des blaireaux, des cerfs et des sangliers, à proximité de la frontière belge. C'est pourquoi, il est vivement conseillé de mettre en place en Belgique un programme de surveillance continu pour la faune sauvage, se basant sur les facteurs de risque connus. Il est également recommandé d'instaurer un programme de surveillance chez les camélidés. Pour terminer, il est recommandé de stimuler le développement et la validation de tests diagnostiques pouvant être utilisés chez les animaux domestiques autres que les bovins et chez la faune sauvage. Ces tests peuvent être d'une grande utilité lorsque ces animaux sont détenus avec des bovins dans une même exploitation ou à proximité d'élevages bovins.

8 Conclusion

Le Comité scientifique a réalisé une évaluation approfondie de la surveillance de la TBb en Belgique. Il en ressort que l'efficacité du programme de surveillance actuel, qui s'appuie essentiellement sur le

test intradermique (tuberculation), est insuffisante. En particulier, la performance de la surveillance de la TBb lors de l'achat s'avère insuffisante, et ce pour diverses raisons.

Par ailleurs, le Comité scientifique a réalisé une étude approfondie de la littérature afin de caractériser et d'évaluer les différentes techniques de diagnostic de la TBb susceptibles d'être utilisées en Belgique dans le cadre de la surveillance de la TBb. Un certain nombre de recommandations ont été formulées sur cette base en vue de futures adaptations du programme de surveillance de la TBb. En plus de réaliser une évaluation générale, nous avons également apporté une réponse à plusieurs questions spécifiques.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. E. Thiry (Sé.)

Bruxelles, le 08/08/2016

Références

Adkin A, Brouwer A, Simons R.R.L., Smith R.P., Arnold M.E., Broughan J., Kosmider R., Downs S.H. Development of risk-based trading farm scoring system to assist with the control of bovine tuberculosis in cattle in England and Wales. *Prev Vet Med*, in press.

Alexander KA, Laver PN, Michel AL, Williams M, van Helden PD, Warren RM, Gey van Pittius NC Novel Mycobacterium tuberculosis complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010 Aug;16(8):1296-9.

Bekara ME, Azizi L, Bénet JJ, Durand B, 2016. Spatial-temporal Variations of Bovine Tuberculosis Incidence in France between 1965 and 2000. *Transbound Emerg Dis*. 63(1):101-13. doi: 10.1111/tbed.12224. Epub 2014 Apr 16.

Casal C, Alvarez J, Bezos J, Quick H, Díez-Guerrier A, Romero B, Saez JL, Liandris E, Navarro A, Perez A, Domínguez L, Juan Ld, 2015. Effect of the inoculation site of bovine purified protein derivative (PPD) on the skin fold thickness increase in cattle from officially tuberculosis free and tuberculosis-infected herds. *Prev Vet Med*. 121(1-2):86-92.

Conlan AJ, McKinley TJ, Karolemeas K, Pollock EB, Goodchild AV, et al. (2012) Estimating the Hidden Burden of Bovine Tuberculosis in Great Britain. *PLoS Comput Biol* 8(10): e1002730 doi:10.1371/journal.pcbi.1002730.

Dudouet, C. Manipuler et contenir les bovins (3e édition). 26 Août 2015

Farnham, M.W., Norby, B., Goldsmith, T.J., Wells, S.J., 2012. Meta-analysis of field studies on bovine tuberculosis skin tests in United States cattle herds. *Prev. Vet. Med*. 103, 234–242.

Flynn, J.L., Chan, J., 2001. Immunology of tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol*. 19, 93–129.

Francis, J., Seiler, R.J., Wilkie, I.W., O'Boyle, D., Lumsden, M.J., Frost, A.J., 1978. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet. Rec*. 103, 420–425.

Garnier T, Eiglmeier K, Camus JC, Medina N, Mansoor H, Pryor M, Duthoy S, Grondin S, Lacroix C, Monsempe C, Simon S, Harris B, Atkin R, Doggett J, Mayes R, Keating L, Wheeler PR, Parkhill J, Barrell BG, Cole ST, Gordon SV, Hewinson RG. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jun 24;100(13):7877-82.

Gilbert, M., Mitchell, A., Bourn, D., Mawdsley, J., Clifton-Hadley, R., Wint, W., 2005. Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. *Nature* 435(7041), 491-496.

Guta S, Casal J, Napp S, Saez JL, Garcia-Saenz A, Perez de Val B, Romero B, Alvarez J, Allepuz A, 2014. Epidemiological Investigation of Bovine Tuberculosis Herd Outbreaks in Spain 2009/2011, et al. *PLoS ONE* 9(8): e104383. doi:10.1371/journal.pone.0104383

Humblet MF, Boschirolu ML, Saegerman C, 2009. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Vet Res*. 40(5): 50.

Humblet MF, Gilbert M, Govaerts M, Fauville-Dufaux M, Walravens K, Saegerman C, 2010. New assessment of bovine tuberculosis risk factors in Belgium based on nationwide molecular epidemiology. *J Clin Microbiol*. 48(8):2802-8.

Inwald J, Hinds J, Palmer S, Dale J, Butcher PD, Hewinson RG, Gordon SV. Genomic analysis of Mycobacterium tuberculosis complex strains used for production of purified protein derivative. J Clin Microbiol. 2003 Aug;41(8):3929-32.

Kindt, J.T., Goldsby, A.R., Osborne, B.A., Kuby, J., 2006. Kuby immunology 6th ed. New York, W.H. Freeman ©2007.

Lu M.C., Lien M.H., Becker R.E., Heine H.C., Buggs A.M., Lipovsek D., Gupta R., Robbins P.W., Grosskinsky C.M., Hubbard S.C., Young R.A. Genes for immunodominant protein antigens are highly homologous in Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium africanum, and the vaccine strain Mycobacterium bovis BCG. Infect. Immun. October 1987 vol. 55 no. 10 2378-2382.

Michelet L, de Cruz K, Phalente Y, Karoui C, Hénault S, Beral M, Boschirolu ML. Mycobacterium microti Infection in Dairy Goats, France. Emerg Infect Dis. 2016 Mar;22(3). doi: 10.3201/eid2203.151870

Norby, B., Bartlett, P.C., Fitzgerald, S.D., Granger, L.M., Bruning-Fann, C.S., Whipple, D.L., Payeur, J.B., 2004. The sensitivity of gross necropsy, caudal fold and comparative cervical tests for the diagnosis of bovine tuberculosis. J. Vet. Diagn. Invest. 16, 126–131.

OIE 2009. Chapter 2.4.7 Bovine tuberculosis. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.07_BOVINE_TB.pdf. In OIE terrestrial Manual.

Plattner, B.L., Doyle, R.T., Hostetter, J.M., 2009. Gamma-delta T cell subsets are differentially associated with granuloma development and organization in a bovine model of mycobacterial disease. Int J Exp Pathol 90, 587-597.

Plattner, B.L., Hostetter, J.M., 2011. Comparative gamma delta T cell immunology: a focus on mycobacterial disease in cattle. Vet Med Int 214384, 16.

Rangel-Frausto MS, Ponce-De-León-Rosales S, Martínez-Abaroa C, Hasløv K. Tuberculosis and tuberculin quality: best intentions, misleading results. Infect Control Hosp Epidemiol. 2001 Aug;22(8):481-4.

Rodriguez-Campos S, Smith NH, Boniotti MB, Aranaz A. Overview and phylogeny of Mycobacterium tuberculosis complex organisms: implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. Res Vet Sci. 2014 Oct;97 Suppl:S5-S19.

Schiller I, Oesch B, Vordermeier HM, Palmer MV, Harris BN, Orloski KA, Buddle BM, Thacker TC, Lyashchenko KP, Waters WR, 2010. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. Transbound Emerg Dis. 57(4):205-20.

Schiller, I., Oesch, B., Vordermeier, H.M., Palmer, M.V., Harris, B.N., Orloski, K.A., Buddle, B.M., Thacker, T.C., Lyashchenko, K.P., Waters, W.R., 2010, Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. Transbound Emerg Dis 57, 205-220.

van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, Boeree MJ, Simeone R, Brosch R, van Soolingen D. Characterization of Mycobacterium orygis as M. tuberculosis complex subspecies. Emerg Infect Dis. 2012 Apr;18(4):653-5.

Welby S, Fretin D, Vandewiele H, Imberechts H, Van der Stede Y, 2015. Bovine Tuberculosis Surveillance at Slaughterhouse and Purchase in Belgium: Approach towards Benchmarking. SVEPM Proceedings, SVEPM conference 2015, Ghent, Belgium

Welby S, Govaerts M, Vanholme L, Hooyberghs J, Mennens K, Maes L, Van Der Stede Y, 2012. Bovine tuberculosis surveillance alternatives in Belgium..Prev Vet Med. 106(2):152-61.

Welsh, M.D., Kennedy, H.E., Smyth, A.J., Girvin, R.M., Andersen, P., Pollock, J.M., 2002. Responses of bovine WC1(+) gammadelta T cells to protein and nonprotein antigens of Mycobacterium bovis. Infect Immun 70, 6114-6120.

Whipple, D.L., Bolin, C.A., Davis, A.J., 1995. Comparison of the sensitivity of the caudal fold skin test and a commercial–interferon assay for the diagnosis of bovine tuberculosis. Am. J. Vet. Res 56, 415–419.

Présentation du Comité scientifique de l'AFSCA

Le Comité scientifique est un organe consultatif de l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA), qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre en charge de la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ces experts externes doivent être en mesure de travailler en toute indépendance et impartialité. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations en matière de politique relève de la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : Secretariat.SciCom@afsca.be.

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique se compose des membres suivants :

D. Berkvens, A. Clinquart, G. Daube, P. Delahaut, B. De Meulenaer, S. De Saeger, L. De Zutter, J. Dewulf, P. Gustin, L. Herman, P. Hoet, H. Imberechts, A. Legrève, C. Matthys, C. Saegerman, M.-L. Scippo, M. Sindic, N. Speybroeck, W. Steurbaut, E. Thiry, M. Uyttendaele, T. van den Berg

Conflit d'intérêts

En raison d'un conflit d'intérêts résultant de leurs responsabilités au sein d'un laboratoire national de référence pour la tuberculose, T. van den Berg (CODA-CERVA), D. Fretin (CODA-CERVA) et V. Mathys (WIV-ISP) ont pris part aux activités du groupe de travail uniquement à titre « d'experts conviés à être entendus » pour les parties relatives aux techniques de diagnostic.

Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé des membres suivants :

Membres du Comité scientifique:	C. Saegerman (rapporteur), D. Berkvens, J. Dewulf, H. Imberechts,
Experts externes :	K. Huygen (WIV-ISP), J. Laureyns (UGent), A. Linden (ULg), L. Rigouts (ITG), V. Roupie (CODA-CERVA), S. Welby (CODA-CERVA)
Experts conviés à être entendus :	T. van den Berg (CODA-CERVA), D. Fretin (CODA-CERVA), V. Mathys (WIV-ISP)
Gestionnaire de dossier :	P. Depoorter (AFSCA)

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres suivants de l'administration (à titre d'observateurs) : J. Evers (AFSCA), J. Hooyberghs (AFSCA), E. Stoop (AFSCA), L. Vanholme (AFSCA).

Cadre légal

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 9 juin 2011.

Disclaimer

Le Comité scientifique se réserve à tout moment le droit de modifier le présent avis si de nouvelles informations et données étaient mises à sa disposition après la publication de la présente version.