



Paratuberculose des ruminants



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Paratuberculose des ruminants

■ **Coordination éditoriale**

M. Ludovic PLEE

Mme Anne-Marie HATTENBERGER

■ **Secrétariat administratif**

Mme Sheila GROS-DESIRS

Composition du groupe de travail

■ Président

M. Marc SAVEY

Pathologie générale et comparée - Afssa, Direction scientifique

■ Membres du groupe de travail

M. Olivier CERF

Productions animales et santé publique - École nationale vétérinaire d'Alfort

M. Antoine CORTOT

Service des maladies de l'appareil digestif - Hôpital Claude Huriez - CHRU, Lille

Mme Barbara DUFOUR

Maladies contagieuses, épidémiologie et zoonoses - École nationale vétérinaire d'Alfort

M. Bertrand FAROULT

Clinique thérapeutique - Vétérinaire praticien

M. Bruno GARIN-BASTUJI

Bactériologie, brucellose, zoonoses - Afssa - Laboratoire d'études et de recherches en pathologie animale et zoonoses, Maisons-Alfort

M. Jean GUILLOTIN

Diagnostic des maladies animales (bovins, porcs et volailles) - Laboratoire vétérinaire départemental du Nord, Lille

M. Jean-Pierre HUGOT

Génétique des maladies inflammatoires - Hôpital Robert Debré, Paris

Mme Karine LAROUCAU-HUET

Bactériologie, paratuberculose - Afssa - Laboratoire d'études et de recherches en pathologie animale et zoonoses, Maisons-Alfort

Mme Arlette LAVAL

Pathologie des animaux de rente - École nationale vétérinaire de Nantes

M. Gilles MARCHAL

Centre national de référence des mycobactéries - Institut Pasteur

M. Yves MILLEMANN

Pathologie médicale du bétail - École nationale vétérinaire d'Alfort

M. François SCHELCHER

Pathologie médicale du bétail - École nationale vétérinaire de Toulouse

Mme Jaqueline VIALARD

Pathologie infectieuse - École nationale vétérinaire de Lyon

■ Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Mme Anne-Marie HATTENBERGER

Chef d'unité - Unité de l'évaluation des risques liés à l'alimentation et à la santé animales - Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires

M. Ludovic PLEE

Coordinateur du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » - Unité de l'évaluation des risques liés à l'alimentation et à la santé animales - Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires

■ **Personnes auditées**

M. Gérard ARGENTE

Vétérinaire conseil - Groupement de défense sanitaire des Côtes-d'Armor

Mme Françoise DION

Vétérinaire conseil - France UPRA sélection

Mme Anne DUFOUR

Inspecteur de santé publique vétérinaire - Secrétaire permanente - Association pour la certification en santé animale

M. Konrad DUHEIM

Responsable recherche et développement - Centre national interprofessionnel de l'économie laitière

M. Marc GAYET

Président - Fédération nationale des groupements de défense sanitaire du bétail

M. Jean-Luc MERCIER

Vétérinaire - Syndicat national des groupements techniques vétérinaires

M. Hervé PETIT

Vétérinaire conseil - Fédération nationale des groupements de défense sanitaire du bétail

M. Dominique REPIQUET

Inspecteur de santé publique vétérinaire - Ministère de l'Agriculture et de la Pêche

Liste des figures	8
Liste des tableaux	8
Liste des principaux acronymes	9
Introduction	10
1. La paratuberculose animale	11
1.1. La maladie : clinique et lésions chez les trois espèces de ruminants domestiques	11
1.1.1. Clinique	11
1.1.2. Aspect lésionnel	12
1.2. Généralités sur l'agent pathogène	13
1.2.1. L'agent de la paratuberculose	13
1.2.2. Écologie de la bactérie	15
1.2.2.1. Résistance de la bactérie aux facteurs physiques et chimiques	15
1.2.2.2. Survie de la bactérie dans l'environnement	16
1.3. Physiopathologie de la maladie	16
1.3.1. Réponse immunitaire	16
1.3.1.1. Immunité innée	16
1.3.1.2. Immunité adaptative	17
1.3.1.3. Modulation de la réponse immunitaire	18
1.3.2. Dissémination de <i>MAP</i> dans l'organisme	19
1.3.2.1. Portes d'entrée et extension locale	19
1.3.2.2. Bactériémie	19
1.3.3. Physiopathologie	20
1.3.3.1. Rôle des cytokines	20
1.3.3.2. Relation symptômes - lésions	20
1.4. Épidémiologie de la maladie et de l'infection	21
1.4.1. Épidémiologie descriptive	21
1.4.1.1. Répartition géographique	21
1.4.1.2. Prévalence	22
1.4.2. Épidémiologie analytique	24
1.4.2.1. Espèces sensibles à la maladie	24
1.4.2.2. Mise en évidence de <i>MAP</i> chez d'autres espèces	24
1.4.2.3. Sources d'infection et matières virulentes	24
1.4.2.4. Modes de contamination	24
1.4.2.5. Facteurs de réceptivité et de sensibilité	25
1.5. Les méthodes de dépistage et de diagnostic de la paratuberculose	27
1.5.1. Particularités du diagnostic et du dépistage de la paratuberculose	27
1.5.1.1. Difficultés d'évaluation des performances intrinsèques des tests de diagnostic et de dépistage	27
1.5.1.2. Conséquences de la physiopathologie sur le diagnostic et le dépistage	28
1.5.2. Diagnostic direct	28
1.5.2.1. Bactérioscopie	28
1.5.2.2. Histopathologie	29
1.5.2.3. Culture	29
1.5.2.4. Réaction de polymérisation en chaîne	30
1.5.3. Diagnostic indirect	31
1.5.3.1. Mesure de la réponse cellulaire	31
1.5.3.2. Mesure de la réponse humorale	31
1.5.4. Résumé des principales techniques de diagnostic de la paratuberculose et de leurs caractéristiques	33
1.5.5. Conclusion sur les limites des tests de diagnostic	34

1.6. Les actions de lutte mises en place en France et à l'étranger	34
1.6.1. Les actions de maîtrise: la vaccination	34
1.6.1.1. Les vaccins	34
1.6.1.2. Efficacité de la vaccination	35
1.6.1.3. Effets indésirables de la vaccination	36
1.6.1.4. Place de la vaccination dans la lutte contre la paratuberculose	36
1.6.2. Plan de lutte et de certification des cheptels	37
1.6.2.1. Plans de lutte organisés contre la paratuberculose clinique	38
1.6.2.2. Plans de certification	39
1.6.3. Évaluation économique et technique de ces actions	43
1.6.3.1. Impact économique de la paratuberculose	43
1.6.3.2. Rentabilité des différentes stratégies mises en place	45
1.6.3.3. Efficacité des stratégies mises en place	46
2. La maladie de Crohn	47
2.1. Nosologie des maladies inflammatoires chroniques intestinales	47
2.1.1. Diagnostic de la maladie de Crohn	47
2.1.2. Diagnostic de la recto-colite hémorragique	48
2.2. Histoire naturelle de la maladie de Crohn	48
2.2.1. Évolution endoscopique post-opératoire	48
2.2.2. Évolution chez les malades non opérés	48
2.2.3. Localisation des lésions	49
2.2.4. Formes sténosantes, pénétrantes et inflammatoires	49
2.2.5. Séméiologie des poussées	49
2.2.6. Préviation de la gravité globale de la maladie	49
2.2.7. Extinction de la maladie au fil du temps	49
2.2.8. Nécessité d'intervention chirurgicale	50
2.2.9. Mortalité	50
2.2.10. Effets des traitements dans l'histoire naturelle de la maladie de Crohn	50
2.3. Épidémiologie et facteurs de risque des maladies inflammatoires chroniques intestinales	51
2.3.1. Épidémiologie descriptive	51
2.3.1.1. Incidence et prévalence	51
2.3.1.2. Sexe et âge	51
2.3.1.3. Ethnies	52
2.3.2. Épidémiologie analytique	52
2.3.2.1. Facteurs de risque environnementaux	52
2.3.2.2. Facteurs de risque génétiques	53
2.4. Hypothèses physiopathologiques de la maladie de Crohn	54
2.4.1. Anomalies immunitaires: activation immunitaire	54
2.4.2. Interaction hôte-microbe	54
3. Relations entre <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> et la maladie de Crohn	57
3.1. Position du problème	57
3.1.1. Données microbiologiques	57
3.1.1.1. Cultures de <i>MAP</i>	57
3.1.1.2. Détection de <i>MAP</i> par PCR (IS 900)	57
3.1.2. Immunité vis-à-vis de <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	58
3.1.2.1. Réaction immunitaire cellulaire vis-à-vis de <i>MAP</i>	58
3.1.2.2. Réaction immunitaire humorale	59
3.1.3. Données physiopathologiques	59
3.1.4. Comparaison anatomo-clinique	60
3.1.5. Données épidémiologiques	60
3.1.6. Données thérapeutiques	61
3.1.7. Conclusion sur le rôle de <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> dans la maladie de Crohn	61

3.2. Exposition humaine à <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	62
3.2.1. Introduction	62
3.2.2. Exposition humaine à <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> lors de la consommation de lait traité thermiquement	62
3.2.2.1. Destruction par la chaleur	62
3.2.2.2. Effet de la pasteurisation sur l'exposition du consommateur	62
3.2.3. Conclusion sur l'exposition de l'Homme	63
4. Bilan et recommandations	64
4.1. Concernant la santé animale	64
4.1.1. Sur l'épidémiologie	64
4.1.2. Sur le diagnostic et le dépistage individuel et de troupeau	64
4.1.3. Sur les plans de lutte.....	65
4.1.4. Sur la vaccination	66
4.1.5. Sur la certification des cheptels.....	67
4.2. Concernant la santé humaine	67
Conclusion générale	68
Annexes	69
Annexe 1: La décision de la création du groupe de travail « paratuberculose des ruminants »	69
Annexe 2: Principales publications portant sur les pertes économiques résultant d'une infection paratuberculeuse en élevage	72
Références bibliographiques	74

Liste des figures

Figure 1 : Type et répartition géographique des plans de lutte vis-à-vis de la paratuberculose mis en place par les différents GDS métropolitains.....	22
Figure 2 : Répartition moyenne, en fonction de la clinique et de l'excrétion, des animaux de cheptels durablement infectés	23
Figure 3 : Modalités de transmission de <i>MAP</i> au sein d'un cheptel.....	26
Figure 4 : Représentation des principales méthodes de diagnostic/dépistage disponibles pour la paratuberculose.....	27
Figure 5 : Évolution de l'excrétion et de la sérologie au cours d'une infection paratuberculeuse	32
Figure 6 : Programme de certification avec garanties à niveaux progressifs	41
Figure 7 : Programme de certification des cheptels bovins vis-à-vis de la paratuberculose.....	42
Figure 8 : Exemple français de plan de contrôle des veaux à l'introduction en station de testage.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Diagnostic différentiel de la paratuberculose chez les bovins, les ovins et les caprins.....	12
Tableau 2 : Principales caractéristiques de la paratuberculose chez les ruminants domestiques	13
Tableau 3 : Caractéristiques des principales techniques de diagnostic de la paratuberculose.....	33
Tableau 4 : Principaux vaccins utilisés contre la paratuberculose.....	34
Tableau 5 : Résultats d'études concernant l'expression clinique suite à la vaccination contre la paratuberculose.....	35
Tableau 6 : Résultats d'études concernant l'excrétion à la suite de la vaccination contre la paratuberculose.....	35
Tableau 7 : Effet de la vaccination sur les mesures sanitaires contre la paratuberculose.....	36
Tableau 8 : Comparaison entre la paratuberculose et la maladie de Crohn	60

Liste des principaux acronymes

ACERSA	Association pour la certification de la santé animale en élevage
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ahp (C et D)	Alkyl hydroxyperoxyde réductase (C et D)
AMM	Autorisation de mise sur le marché
APMS	Arrêté préfectoral de mise sous surveillance
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
BAAR	Bacille acido-alcool-résistant
BVD	Bovine Viral Diarrhea (diarrhée virale bovine ou maladie des muqueuses)
CD4	Cluster de différenciation 4
CF	Culture fécale
CIA	Centre d'insémination artificielle
CPA	Cellule présentatrice d'antigènes
CMH (I et II)	Complexe majeur d'histocompatibilité (I et II)
CRP	Protéine C réactive
EFSA	European food safety authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)
EPIMAD	Registre des maladies inflammatoires chroniques du tube digestif
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay (dosage d'immunosorption liée à enzyme)
FNGDS (B)	Fédération nationale des groupements de défense sanitaire (du bétail)
GDS	Groupement de défense sanitaire
HLA	Human leucocyte antigen
IBR	Infectious bovine rhinotracheitis (rhinotrachéite infectieuse bovine)
IDC	Intradermo-tuberculation comparative
IFN α	Interféron α
IFN γ	Interféron γ
IL (23R)	Interleukine (23R)
IRM	Imagerie par résonance magnétique nucléaire
IS 900	Insertion séquence 900 (séquence d'insertion 900)
LAM	(antigène) lipoarabinomannane
MAA	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>
MAC	<i>Mycobacterium avium</i> complex
MADO	Maladie animale à déclaration obligatoire
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MARC	Maladie animale réputée contagieuse
MC	Maladie de Crohn
MDP	Muramyl dipeptide
MG	Matières grasses
MICI	Maladie inflammatoire chronique intestinale
NF kappa B	nuclear factor kappaB (facteur nucléaire kappaB)
Nramp	Natural resistance associated macrophage protein
NS	Non significatif
NY	New York
OR	Odds ratio
pi	post-inoculation
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne
QTL	Quantitative trait locus
RCH	Recto-colite hémorragique
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SNGTV	Société nationale des groupements techniques vétérinaires
TGFβ	Transforming growth factor β (facteur de croissance transformant β)
Th (1 ou 2)	T helper (1 ou 2)
TLR (2 ou 4)	Toll-like receptor (2 ou 4)
TNF	Tumor necrosis factor
TNFSF15	Tumor necrosis factor superfamily 15
TP	Taux protéique
UHT	Ultra haute température
VBJDCP	Voluntary bovine Johne's disease control program
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Identifiée depuis plus d'un siècle, la paratuberculose des ruminants reste une maladie du présent dont les conséquences sont de mieux en mieux connues en élevage. Pourtant, les moyens disponibles pour son dépistage restent de performance discutable et rendent sa maîtrise difficile. Ces constatations ne sont pas limitées à la France, ni à l'Union européenne, mais mondiales.

Depuis une vingtaine d'années, l'agent étiologique de la paratuberculose des ruminants, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (*MAP*), est régulièrement mis en cause dans le développement de la maladie de Crohn (MC) chez l'homme. Les progrès continus enregistrés dans la compréhension de la maladie humaine permettent maintenant de mieux définir les mécanismes de son développement sans pour autant que son étiologie soit encore intégralement connue.

L'éventuelle implication de *MAP* dans une problématique de santé publique a clairement stimulé l'intérêt vis-à-vis de la maladie animale. Toutefois, les résultats en termes de connaissance restent limités, même si un réel effort d'amélioration de l'utilisation des outils disponibles a été mené dans quelques pays, dont la France, notamment dans le cadre de plans de lutte organisée.

Sur proposition du Comité d'experts spécialisé « Santé animale », un groupe d'experts a été mis en place afin :

- d'élaborer un bilan des connaissances disponibles sur la paratuberculose des ruminants ;
- de recenser les actions développées pour le contrôle de la maladie animale depuis les années 90 en France et en Europe ;
- d'identifier les efforts de recherche nécessaires à la création d'outils et de méthodes permettant d'améliorer la détection et le contrôle de l'affection animale ;
- d'analyser les modalités de réduction de l'exposition humaine, notamment au travers du lait ;
- de proposer des recommandations pour le contrôle de cette affection, tant en santé animale qu'en santé publique.

Dans ce rapport sont donc rassemblées, de façon synthétique, les données disponibles sur les deux maladies, humaine (MC) et animale (paratuberculose). Elles permettent, en l'état actuel des connaissances, de discuter le rôle de *MAP* dans la maladie de Crohn. Ce document a, en outre, pour objectif d'identifier les stratégies de lutte et de surveillance, ainsi que leurs lacunes. Enfin, ce rapport étudie le rôle que certains auteurs ont attribué à la consommation de lait pasteurisé dans la transmission de *MAP* à l'homme, avant d'émettre des recommandations, tant en santé animale qu'en santé publique.

Le groupe d'experts s'est réuni dix-sept fois de novembre 2005 à mars 2008.

Ce rapport a été présenté, discuté et validé lors de la réunion du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » du 10 septembre 2008 et lors des réunions du Comité d'experts spécialisé « Microbiologie » des 13 novembre et 11 décembre 2008.

1. La paratuberculose animale

1.1. La maladie : clinique et lésions chez les trois espèces de ruminants domestiques

La paratuberculose des ruminants (ou maladie de Johne) est une maladie infectieuse et contagieuse provoquée par une mycobactérie spécifique, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP).

Elle est connue dans les trois espèces de ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins), dans tous les pays d'élevage. Elle est aussi identifiée dans la plupart des espèces de ruminants sauvages, à l'état libre ou en captivité. Elle se caractérise par une longue incubation (de quelques mois à plus de dix ans) correspondant à une période d'infection inapparente dont la durée dépend de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les signes cliniques apparaissent chez la majorité des bovins entre deux et sept ans. Des cas précoces peuvent être observés dans les conditions naturelles chez des animaux jeunes mais rarement avant l'âge de douze mois, et généralement dans un contexte de très forte pression d'infection. Chez les petits ruminants, la durée d'incubation est estimée à six mois minimum, les symptômes apparaissant généralement vers un an et demi à deux ans.

1.1.1. Clinique

L'évolution clinique est pratiquement identique chez tous les ruminants et simule par bien des aspects une affection parasitaire gastro-intestinale ou hépatique. Au début, les symptômes sont relativement discrets et peu évocateurs, puis ils s'aggravent progressivement, avec parfois des phases de rémission, notamment pendant la gestation. Quelle que soit l'espèce animale, l'évolution est apyrétique, dominée par un amaigrissement accompagné d'une chute de production lactée, malgré un appétit conservé. Les premiers signes cliniques observés concernent l'état général : le poil apparaît terne, piqué et une amyotrophie, touchant principalement les masses lombaires et des membres postérieurs, se développe. C'est souvent après cette phase d'altération de l'état général que les symptômes digestifs apparaissent, assez régulièrement dans les semaines qui suivent une mise bas. D'abord intermittente, la diarrhée devient progressivement continue, avec émission de fèces ramollies puis franchement liquidiennes, fétides et fréquemment surmontées de bulles de gaz causées par une forte teneur en mucoprotéines. L'amyotrophie s'amplifie. L'abdomen de l'animal devient levretté, les cuisses et les flancs sont largement souillés de matières fécales diarrhéiques. Un œdème sous-glossien (« signe de la bouteille ») lié à une hypoprotéïnémie sévère peut être observé. En phase terminale, la station debout devient difficile, l'animal léthargique continuant toutefois à s'alimenter. La mort survient dans un état profond de marasme physiologique. La durée de la maladie est variable, de plusieurs semaines à plusieurs mois.

Chez les petits ruminants, les symptômes généraux dominent le tableau clinique. La diarrhée (simple ramollissement des fèces) est constatée dans 20 à 60 % des cas chez les ovins et exceptionnellement - et toujours tardivement - chez les caprins.

Les symptômes chez les cervidés sont très proches de ceux décrits chez les ruminants domestiques, mais des formes d'évolution aiguë ont été signalées en fermes d'élevage chez des individus jeunes.

Différentes publications font état d'infections possibles chez les monogastriques. Il s'agit majoritairement de situations expérimentales, caractérisées par une répllication du germe chez l'hôte sans manifestation clinique (cheval, porc et poulet). Récemment, MAP a été mis en évidence chez des lapins de garenne vivant dans l'environnement de bovins paratuberculeux, ainsi que chez des renards, fouines ou belettes. Le germe a été isolé des matières fécales de lagomorphes sans aucun signe clinique.

Compte tenu des signes observés, le diagnostic différentiel de la paratuberculose doit être réalisé avec toutes les causes de maladie cachectisante, avec ou sans diarrhée selon l'espèce concernée (cf. tableau 1).

Tableau 1 : Diagnostic différentiel de la paratuberculose chez les bovins, les ovins et les caprins

Bovins	Petits ruminants
Parasitisme gastro-intestinal (paramphistomose, œsophagostomose larvaire, ostertagiose)	Parasitisme gastro-intestinal
Parasitisme hépatique (fasciolose)*	Parasitisme hépatique (fasciolose)*
Forme chronique de maladie des muqueuses	Déficit alimentaire
Forme chronique de salmonellose	Affections dentaires
Cardiopathies	Infestations massives d'ectoparasites
Thrombose de la veine cave postérieure	Maladie caséreuse
Insuffisance rénale (pyélonéphrite, amyloïdose)	Pasteurellose chronique
Carence en cuivre et/ou en sélénium*	Arthrite encéphalite caprine
Carence en cobalt	Maedi
Lymphosarcome de la caillette	Tremblante
	Carences en cuivre ou en cobalt*
	Tuberculose (chèvre essentiellement)

* Associations possibles.

1.1.2. Aspect lésionnel

Il n'existe pas de corrélation absolue entre les symptômes observés et la gravité, l'intensité et l'extension des lésions observées à l'autopsie.

Les lésions macroscopiques générales (cf. tableau 2) sont le reflet d'un état d'hypoprotéinémie avancé classique lors de maladie cachectisante : amyotrophie, œdème sous cutané en régions déclives, pâleur des muqueuses, présence d'un transsudat jaune citrin coagulant à l'air libre, disparition des réserves graisseuses internes, œdème des sillons coronaires et du mésentère. L'essentiel des lésions macroscopiques organiques se situe sur l'appareil digestif. Elles siègent principalement en partie terminale de l'intestin grêle. La paroi apparaît épaissie, la muqueuse pouvant présenter, dans les cas avancés, des bourrelets transversaux et longitudinaux, non effaçables à la traction, lui donnant un aspect de circonvolutions cérébrales (stade dit encéphaloïde). La surface est parfois granuleuse, parsemée de traînées de sang ou de quelques pétéchies, mais on ne constate jamais de phénomène ulcératif ou de nécrose. Cette entérite chronique hypertrophiante est observable, à des degrés divers, chez les différentes espèces de ruminants. Le stade encéphaloïde est essentiellement constaté chez les bovins alors qu'il est plus rare chez les ovins et exceptionnel chez les caprins. Les nœuds lymphatiques mésentériques sont modérément atteints chez les bovins, légèrement hypertrophiés et œdémateux. En revanche, chez les petits ruminants, ils sont fréquemment le siège d'une nette hypertrophie et de foyers caséux ou calcifiés de 0,5 à 5 mm de diamètre, plutôt localisés à la périphérie du ganglion. Ces lésions, sans être pathognomoniques, constituent l'une des particularités du tableau lésionnel de la paratuberculose chez les petits ruminants.

Quelques atteintes extradigestives ont été signalées telles que des nodules caséux hépatiques, des lésions d'athérosclérose aortique ou d'amyloïdose rénale, sans qu'elles puissent être rapportées spécifiquement à l'évolution de la paratuberculose.

Les lésions microscopiques du tube digestif se présentent, selon le stade évolutif, sous une forme tuberculoïde ou sous une forme lépromateuse, tous les stades intermédiaires entre ces deux extrêmes pouvant être observés.

Le stade tuberculoïde est caractérisé par la présence, le plus souvent à proximité des plaques de Peyer, de granulomes inflammatoires constitués principalement de macrophages contenant de faibles quantités de MAP (stade paucibacillaire), ou de son seul matériel génétique (stade sphéroplaste).

Le stade lépromateux correspond à une étape plus avancée de l'infection. Il se caractérise par une infiltration diffuse de la muqueuse, par de très nombreux macrophages avec un cytoplasme très abondant où se retrouvent de nombreuses mycobactéries (cellules épithélioïdes). Des cellules géantes multinucléées, correspondant à une fusion de macrophages sont parfois observées chez les bovins et les ovins. On retrouve ces mêmes formations granulomateuses dans les nœuds lymphatiques, plutôt en zone corticale.

Le tableau lésionnel ne serait pas complet sans évoquer les modifications sanguines tant biochimiques qu'hématologiques. La réduction de l'hématocrite et du taux d'hémoglobine caractérise une anémie. Une modification de la formule sanguine est également signalée chez la chèvre (inversion du rapport neutrophiles/lymphocytes). Au plan biochimique, la concentration sérique en protéines est modifiée avec un effondrement

de l'albumine, une baisse de β_2 et γ -globulines tandis que la teneur en globulines α_1 , α_2 et β_1 augmente. L'ionogramme est également modifié avec une hypocalcémie, une hypomagnésémie et une hypokaliémie. Aucune de ces modifications homéostasiques n'est caractéristique de la paratuberculose.

Tableau 2 : Principales caractéristiques de la paratuberculose chez les ruminants domestiques

	Bovins	Ovins	Caprins
Âge moyen d'apparition des signes cliniques	4/5 ans	1,5 à 2 ans	1,5 à 2 ans
Diarrhée	+++	+ / ++ Ramollissement	- / +
Lésions générales	Amyotrophie cachexie	Idem + anémie	Idem + anémie
Épaississement intestinal (aspect encéphaloïde)	+++	++	Exceptionnel
Extension des lésions intestinales	Intestin grêle et gros intestin (IG + GI) → Rectum (10 % des cas cliniques)	IG + GI	IG seulement Raréfaction en zone VIC (valvule iléo-cæcale)
Lésions des ganglions mésentériques	Augmentation de taille	Augmentation de taille	Nécrose et calcification fréquentes
Lésions microscopiques	Cellules épithélioïdes et cellules géantes infiltration lymphocytaire	Cellules épithélioïdes et cellules géantes	Cellules épithélioïdes

1.2. Généralités sur l'agent pathogène

1.2.1. L'agent de la paratuberculose

Les bactéries du genre *Mycobacterium* appartiennent au phylum des *Actinobacteria* et à la famille des *Mycobacteriaceae*. Le genre *Mycobacterium* comprend environ 80 espèces.

Deux groupes principaux peuvent être distingués : les mycobactéries à croissance lente et les mycobactéries à croissance rapide, selon leur capacité ou non à se développer *in vitro* en donnant des colonies visibles en moins de sept jours (cf. encadré ci-après).

Les mycobactéries se présentent sous la forme de bacilles fins ne se décolorant ni sous l'action des acides forts, ni sous l'action de l'alcool, et sont ainsi définies comme des « bacilles acido-alcoolo-résistants » (ou BAAR). La principale caractéristique des mycobactéries est leur résistance à de nombreux facteurs ou traitements physiques ou chimiques, du fait de la composition riche en lipides de leur paroi.

MAP appartient au complexe *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAC). Ce complexe intègre l'espèce *Mycobacterium avium*, elle-même subdivisée en quatre sous-espèces (cf. encadré) :

- *M. avium* subsp. *avium* ;
- *M. avium* subsp. *hominissuis* ;
- *M. avium* subsp. *silvaticum* ;
- *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.

Bien que très proches au niveau nucléotidique, les bactéries de cette espèce se distinguent en termes de tropisme, de maladie, et de pathogénicité.

Dans les conditions de laboratoire, *MAP* se caractérise par une vitesse de croissance lente (minimum huit semaines) et par l'absence de production de mycobactine, molécule nécessaire au transport du fer. Cette particularité explique que *MAP* ne peut croître qu'au sein de cellules animales, le plus souvent des macrophages. *MAP* est cependant très proche des autres mycobactéries appartenant au complexe *avium*.

Les différents isolats de MAP sont très semblables d'un point de vue phénotypique. Toutefois, la vitesse de culture et la pigmentation sont les deux principaux caractères variables observés. Ces phénotypes semblent être associés à des isolats issus d'espèces hôtes différentes : les isolats de moutons se développent lentement et sont parfois pigmentés tandis que les isolats de chèvres et de bovins se développent plus rapidement.

Le développement d'outils moléculaires a permis de mieux étudier ce complexe et d'exploiter les différences moléculaires, pour mieux distinguer les sous-espèces de *Mycobacterium avium*. La découverte dans les années 90 d'une première séquence d'insertion, nommée *IS 900*, a déjà beaucoup aidé à sa différenciation du complexe *avium*. Depuis, de nouvelles techniques moléculaires ont été développées (Restriction Fragment Length Polymorphism, Pulse Field Gel Electrophoresis, analyse des Variable Number of Tandem Repeats, etc.) et permettent de différencier les souches MAP du complexe MAC, mais permettent également d'observer des différences au sein des souches MAP. Néanmoins, aucune signification épidémiologique, ni pathogénique n'a pu, jusqu'à présent, être donnée à ces différences.

Le complexe *Mycobacterium avium-intracellulare*

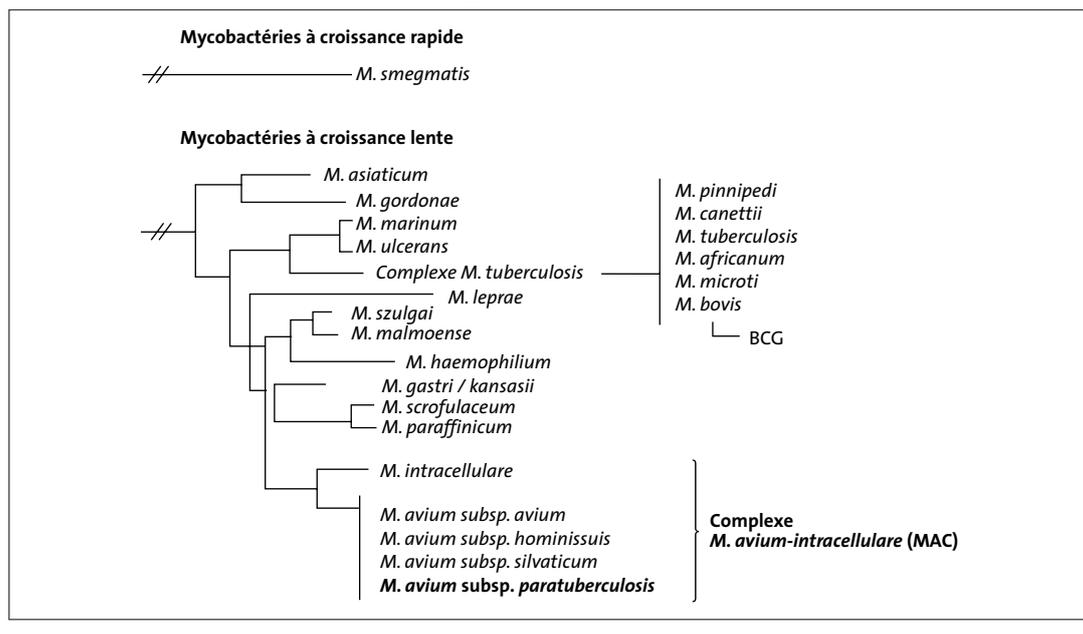
M. avium subsp. *avium* et *M. intracellulare* sont connus depuis longtemps comme pathogènes opportunistes chez l'homme, à l'origine d'infections respiratoires chroniques, telles que la broncho-pneumopathie chronique obstructive. Plus récemment, ces deux bactéries ont été associées comme pathogènes opportunistes majeurs chez les sujets immunodéprimés, notamment les personnes atteintes de SIDA. De ce fait, ces deux espèces sont souvent regroupées et constituent le complexe *M. avium-intracellulare* (MAC).

Les quatre sous-espèces de *M. avium* sont *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *silvaticum* et *M. avium* subsp. *paratuberculosis* :

- *M. avium* subsp. *avium* est à l'origine de tuberculose chez l'oiseau et d'infections opportunistes chez les personnes immunodéprimées, mais peut être porté à l'état latent chez l'homme et de nombreuses espèces animales, y compris les oiseaux. Il est très largement présent dans l'environnement, le sol notamment ;
- *M. avium* subsp. *hominissuis* est responsable d'infections chez le porc et d'infections opportunistes chez les personnes immunodéprimées ainsi que chez de nombreuses espèces animales ;
- *M. avium* subsp. *silvaticum* a été isolé initialement du pigeon ramier et a été rapporté comme à l'origine d'une maladie ressemblant à la paratuberculose chez le veau et les cervidés ;
- *M. avium* subsp. *paratuberculosis* est l'agent de la paratuberculose.

Les quatre sous-espèces possèdent de très nombreux antigènes en commun et peuvent néanmoins être spécifiquement distinguées par des méthodes moléculaires et certains caractères phénotypiques.

Relations phylogénétiques entre différentes mycobactéries sur la base des séquences du gène ribosomal 16S



1.2.2. Écologie de la bactérie

En raison de son incapacité à produire de la mycobactine, *MAP* ne peut se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule animale où elle trouve les moyens de capter le fer. Dans l'environnement, *MAP* est donc en état de survie, mais elle possède une résistance à de nombreux facteurs, résistance qui est une de ses caractéristiques essentielles.

Il est important de noter que la plupart des données disponibles, quant à la survie et à la résistance de *MAP*, ont été publiées il y a plus de 30 ans. Par ailleurs, bien que les méthodes de détection et de dénombrement aient évolué depuis, aucune étude plus récente sur l'écologie de *MAP* n'est disponible. De plus, les données n'existent parfois que pour d'autres mycobactéries, comme par exemple *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (MAA), qui, clairement, diffère en termes de vitesse de croissance, de répllication possible ou non en dehors d'une cellule hôte, ce qui pourrait avoir un effet direct sur la susceptibilité à certains facteurs environnementaux (Collins *et al.*, 2001).

L'ensemble des données concernant MAA sont fournies à titre indicatif dans cette partie. Rien ne permet d'affirmer qu'elles sont directement transposables à *MAP*, même si elles ont été utilisées dans le passé pour caractériser le comportement de *MAP*.

1.2.2.1. Résistance de la bactérie aux facteurs physiques et chimiques

Les mycobactéries sont, de façon notoire, résistantes à de nombreux facteurs physiques et chimiques. *MAP* semble être l'une des mycobactéries les plus résistantes.

Résistance aux facteurs physiques

Résistance à la chaleur et au froid

MAP résiste à la chaleur de façon comparable à MAA.

Concernant le froid, il a été publié que le nombre d'organismes vivants présents dans des prélèvements de fèces de bovins infectés (naturellement ou expérimentalement), après un passage à -70°C , diminue de façon significative au-delà de trois semaines de conservation. Néanmoins, la congélation en laboratoire des prélèvements fécaux est couramment pratiquée (Richards et Thoen, 1977). Une réfrigération continue à $+4^{\circ}\text{C}$, jusqu'à quinze semaines, ne semble pas affecter le nombre d'organismes présents dans l'échantillon concerné.

MAP est détruit par une pasteurisation de 15 secondes à 72°C à raison de trois à quatre réductions décimales (ou divisions de la population bactérienne par dix) avec une probabilité de 5 %, quatre à six avec une probabilité de 15 %, et six à douze avec une probabilité de 80 % (Cerf *et al.*, 2007).

Résistance aux ultraviolets

Tandis que d'anciennes données indiquaient que la lumière solaire (et probablement les rayons ultraviolets) diminuaient le taux de survie des mycobactéries, une étude plus récente indique que les ultraviolets auraient un effet minime sur la réduction de la viabilité de *MAP* (Schroen *et al.*, 1999).

Résistance aux facteurs chimiques : antibiotiques et désinfectants

Seuls quelques antibiotiques peuvent être utilisés pour traiter les infections mycobactériennes, et nécessitent un traitement de longue durée. Tout comme MAA, *MAP* résiste aux antibiotiques efficaces contre *M. tuberculosis*, l'agent de la tuberculose. Sur le terrain, l'antibiothérapie de la paratuberculose n'est pas pratiquée; elle est classiquement déconseillée et aucune molécule à usage vétérinaire ne possède d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour cette indication.

En raison de sa forte teneur en lipides, *MAP* est très résistante à la plupart des désinfectants dans les conditions classiques de leur utilisation (concentrations recommandées pour les maladies animales réputées contagieuses - MARC), notamment aux ammoniums quaternaires.

Par ailleurs, sont réputés efficaces le formol à 5 %, l'eau de javel à 10 degrés chlorométriques, le crésyl à 10 % et le sulfate de cuivre à 5 %. Ces données déjà anciennes mériteraient de faire l'objet d'une vérification à l'aide des techniques actuellement disponibles.

Concernant le chlore, il n'y a pas de données précises sur la sensibilité de *MAP* à cette molécule. Par contre, celles disponibles pour MAA montrent une résistance importante et variable de cette bactérie au chlore en fonction des souches. Celles qui se multiplient lentement s'avèrent notamment être les plus résistantes. De plus, celles qui ont au préalable été adaptées à l'eau sont dix fois plus résistantes au chlore que les bactéries cultivées sur un milieu synthétique (Collins *et al.*, 2001).

1.2.2.2. Survie de la bactérie dans l'environnement

Survie dans l'eau

Plusieurs études microbiologiques ont été réalisées pour étudier la survie de *MAP* dans l'eau. Elle a été estimée à 6-18 mois dans l'eau courante ou encore l'eau de mare (Lovell *et al.*, 1944; Larsen *et al.*, 1956), et jusqu'à 15 mois dans l'eau distillée (Collins *et al.*, 2001).

Survie sur des sols souillés par des fèces contaminées

Une étude réalisée sur des sols souillés par des matières fécales de bovins naturellement infectés et soumis à différents facteurs tels que la congélation, le séchage, l'exposition à la lumière, les changements de température, la pluie, a montré que *MAP* survivait en milieu extérieur jusqu'à 152-246 jours, selon les conditions climatiques appliquées (Lovell *et al.*, 1944).

Le séchage, l'exposition à la lumière, un pH basique diminuent le temps de survie de *MAP* dans le sol. Les urines des bovins sont aussi peu favorables à la survie de *MAP*.

La résistance du bacille est classiquement considérée comme moins importante dans les sols à teneur élevée en calcium. Ainsi, un pH acide du sol et une faible teneur en calcium ont souvent été associés à une prévalence élevée de la paratuberculose.

MAP ne se multiplie pas dans le milieu extérieur; ainsi, sa présence dans l'environnement est nécessairement liée à celle d'animaux excréteurs. Ses capacités de résistance lui permettent de persister dans l'environnement pendant de longues périodes et expliquent sa présence sur les pâtures, dans les eaux de surface et sur les végétaux.

1.3. Physiopathologie de la maladie

1.3.1. Réponse immunitaire

La complexité de la réponse immunitaire à l'infection par *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* est liée :

- aux mécanismes d'évasion développés par la bactérie vis-à-vis de la réponse innée;
- à l'évolution de la nature même de la réponse adaptative au cours de l'infection.

1.3.1.1. Immunité innée

Les phagocytes mononucléés (monocytes, macrophages, cellules dendritiques) peuvent être considérés comme une des cibles majeures de l'infection par *MAP*.

En effet, chez un animal infecté, ces cellules :

- sont infectées chroniquement par *MAP*;
- présentent les antigènes (Ag) de *MAP* aux lymphocytes et initient ainsi la réponse immunitaire adaptative;
- servent de vecteurs à *MAP* pour sa dissémination sanguine.

Résistance à la bactéricidie

La persistance de *MAP* dans les monocytes est la résultante de processus simultanés de dégradation et de multiplication (Woo *et al.*, 2006).

Pour survivre dans les macrophages, dont une fonction essentielle est la bactéricidie, les mycobactéries développent différents mécanismes d'évasion, variables d'une espèce à l'autre (Stabel, 2006).

L'inhibition de la fusion phagosome-lysosome et de l'acidification du phagosome a été démontrée pour *MAP* (Kuehnel *et al.*, 2001; Woo *et al.*, 2007).

La protection vis-à-vis des intermédiaires réactifs oxygénés (anion superoxyde en particulier) semble établie pour *MAP*. Certains antigènes de *MAP* (AhpC et D - alkyl hydroxyperoxyde réductase C et D) pourraient jouer un rôle majeur (Olsen *et al.*, 2000).

La production macrophagique de réactifs intermédiaires nitrés (oxyde nitrique) est réduite lors d'infection par *MAP* (Simutis *et al.*, 2007).

Les interactions entre les macrophages bovins et les mycobactéries sont spécifiques de la sous-espèce de *M. avium* et de la souche de *MAP*.

Les macrophages bovins infectés par *MAP* ont de moindres capacités d'acidification du phagosome et évoluent moins vers l'apoptose, que lors d'infection par *M. avium* subsp. *avium* (Weiss *et al.*, 2004). Un des mécanismes explicatifs semble impliquer le TLR2 bovin (Toll Like Receptor) et la voie d'activation des Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK P38), qui informent le macrophage sur la nature de l'agent pathogène afin de déclencher la défense appropriée (Weiss *et al.*, 2008).

Selon la souche de *MAP*, notamment selon l'espèce d'origine (bovine ou ovine), l'infection de macrophages bovins se traduit par des effets différents sur la phagocytose, la survie de la bactérie ou du macrophage (Gollnick *et al.*, 2007).

Aucune différence de persistance de *MAP* dans les phagocytes issus de veaux infectés âgés de six mois, ou d'adultes malades, n'a été observée *in vitro* (Bendixen *et al.*, 1981). Toutefois ces éléments ne sont pas suffisants pour exclure un rôle de l'immunité innée dans l'explication de la réceptivité/sensibilité liée à l'âge.

L'effet de la réponse immune adaptative sur les capacités bactéricides des phagocytes mononucléés est souvent avancé, pour expliquer l'évolution des interactions hôte-*MAP* au cours du temps.

Présentation des antigènes

Les phagocytes mononucléés jouent un rôle essentiel de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) initiant ainsi la réponse immune adaptative.

L'infection de macrophages bovins par *MAP* réduit la production de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) I et II en surface, comparativement à l'infection par *M. avium* subsp. *avium* (Weiss *et al.*, 2001).

1.3.1.2. Immunité adaptative

Nature et évolution de la réponse adaptative

L'immunité adaptative à médiation cellulaire joue un rôle majeur dans la protection. Ainsi la multiplication intestinale de *MAP* est grandement facilitée chez des souris « nude » (absence de réponse à médiation cellulaire) (Hamilton *et al.*, 1989).

De manière schématique, la polarisation de la réponse adaptative est considérée comme différente selon les phases de l'infection, avec une réponse de type Th1 pendant la phase préclinique, et de type Th2 pendant la phase clinique (Clarke, 1997; Zhao *et al.*, 1999; Manning et Collins, 2001; Tanaka *et al.*, 2005; Stabel, 2006).

Toutefois, cette approche dichotomique, même si elle a un intérêt explicatif évident des lésions et un intérêt appliqué, notamment dans le diagnostic, est simpliste. Au cours de l'infection, des recouvrements sont possibles. Dans les cas naturels, la liaison polarisation de la réponse immune/phase de l'infection est probablement complexe.

La réponse de type Th1 est caractérisée :

- en ce qui concerne les cytokines, par la production d'interféron γ (IFN γ), d'interleukine 2 (IL2) et de cachectine (Tumor necrosis factor -TNF α -). La production d'IL2 n'a pas été démontrée lors d'infection par *MAP* (Coussens *et al.*, 2004; Berger et Griffin, 2006);
- au plan lésionnel, par des lésions intestinales paucibacillaires, qualifiées de « tuberculoïdes », car sous forme de foyers composés de nombreux lymphocytes avec proportionnellement peu de macrophages.

Cette réponse de type Th1 correspondrait à une maîtrise de l'infection par le système immunitaire, dans les phases initiales de l'infection, et durerait ainsi quelques mois à quelques années.

La réponse de type Th2 est caractérisée :

- pour les cytokines, par la production d'interleukines 4 (IL4), 5 (IL5), 6 (IL6), 10 (IL10);
- sur le plan lésionnel, par des lésions intestinales multibacillaires, qualifiées de « lépromateuses », car sous forme d'infiltration diffuse composée de rares lymphocytes proportionnellement aux nombreux macrophages.

Cette réponse de type Th2 correspondrait à une rupture de l'équilibre immunité/*MAP* au profit de *MAP*, et à la phase clinique de l'infection.

La réponse de type Th2 provoque l'activation et la prolifération des lymphocytes B (Waters *et al.*, 1999), avec en conséquence la production d'anticorps.

Sur un modèle expérimental d'inoculation intratonsillaire de *MAP* sur des veaux nouveau-nés, la réponse en anticorps (antigène lipoarabinomannane - LAM -) a pu être détectée dès 134 jours post-inoculation (pi) alors que la réponse cellulaire (INF γ , test de transformation lymphoblastique), n'est devenue supérieure aux valeurs pré-inoculation qu'à 194 jours pi (Waters *et al.*, 2003). Ces résultats suggèrent que le caractère de succession dans le temps des réponses Th1 et Th2 est relatif.

Par ailleurs, compte tenu du caractère intracellulaire de *MAP*, la réponse humorale est classiquement considérée comme non protectrice.

Mécanismes régulateurs

Plusieurs questions majeures portent :

- sur la régulation et l'orientation de la réponse adaptative ;
- sur l'impact de la réponse adaptative sur l'immunité innée.

Les mécanismes moléculaires et cellulaires sont en cours d'exploration.

Une sous-population de lymphocytes T, qualifiée de T régulateurs (Treg ou Th3), affecte négativement la réponse immune ou a des fonctions suppressives, par la production de cytokines (IL10 et TGF β). Cette sous-population semble impliquée dans le développement de l'infection paratuberculeuse.

Chez des bovins infectés par *MAP* en phase immédiatement préclinique, l'expression de l'IL10 et du TGF β dans les tissus iléaux et les nœuds lymphatiques associés est significativement plus élevée que chez les témoins sains ou les bovins en phase clinique (Khalifeh et Stabel, 2004b). L'IL10 et le TGF β induisent une réduction de la production d'INF γ (Khalifeh et Stabel, 2004a).

Par ailleurs, certaines cytokines caractéristiques d'un type de réponse Th1 (INF γ) ou Th2 (IL4 et IL10) ont en retour un effet dépresseur, respectivement pour la polarisation de type Th2 et Th1 (Stabel, 2006).

Les effets de différentes cytokines sur les propriétés bactéricides des phagocytes mononucléés ont été étudiés *in vitro* et *ex vivo*.

L'INF γ (marqueur de la réponse Th1) réduit la survie de *MAP* dans les macrophages par accroissement :

- de l'acidification et de la maturation des phagosomes (Hostetter *et al.*, 2002) ;
- de la production d'oxyde nitrique (Zhao *et al.*, 1997). Toutefois, ces résultats sont controversés (Simutis *et al.*, 2007).

Le TNF α , en forte concentration, augmente les propriétés mycobactéricides des macrophages (Stabel, 1995).

L'IL10 (cytokine produite en phase clinique) a également pour effet de réduire la production des molécules co-stimulatrices de surface des cellules présentatrices d'antigène (Stabel, 2006).

1.3.1.3. Modulation de la réponse immune

Différents facteurs génétiques et d'élevage, susceptibles de moduler la réponse immune, ont été évalués.

Facteurs génétiques

L'importance des facteurs génétiques dans les infections à mycobactéries est largement démontrée :

- dans l'espèce humaine, différents gènes ont été identifiés (Bellamy, 2003 ; Alcaïs *et al.*, 2005), notamment :
 - le gène *Nramp* (Natural Resistance Associated Macrophage Protein), exprimé dans les macrophages, codant pour une protéine de transport des cations, notamment le fer, et associé à une sensibilité à la tuberculose,
 - des gènes associés à une signalisation déficiente pour l'INF γ ,
 - le gène du récepteur à la vitamine D qui est associé à une réduction de la croissance de *M. tuberculosis* dans les monocytes,
 - des gènes du CMH II, associés à une plus grande sensibilité à la lèpre et à la tuberculose ;
- chez la souris, les animaux homozygotes pour les allèles mutants de *Nramp* sont plus sensibles à l'infection par *MAP* que les animaux de génotype sauvage (Frelief *et al.*, 1990 ; Veazey *et al.*, 1995) ;
- Chez les ruminants, l'impact des facteurs génétiques est en pleine évaluation.

Dans l'espèce ovine, de possibles associations entre les gènes *Nramp* et du *CMH* ont été suggérées (Reddacliff *et al.*, 2005), sans réelle démonstration.

Dans l'espèce bovine, dans la race Prim'Holstein, une héritabilité a pu être mise en évidence, comprise entre 0,06 et 0,18, selon les caractères d'inclusion phénotypique, les modèles statistiques utilisés et la population étudiée (Koets *et al.*, 2000; Mortensen *et al.*, 2004; Gonda *et al.*, 2007; Hinger *et al.*, 2007). L'analyse de familles de bovins Prim'Holstein aux États-Unis a permis de détecter un QTL (Quantitative Trait Locus), sur le chromosome 20, associé à la réceptivité/sensibilité (Gonda *et al.*, 2007).

Facteurs d'élevage

Dans des modèles murins, différents facteurs nutritionnels et hormonaux modulent la sensibilité à *MAP*.

Une carence d'apport en calcium, qui se traduit en parallèle par une augmentation de la vitamine D₃ sanguine, favorise le développement de l'infection par *MAP* (Stabel *et al.*, 1996; Stabel *et al.*, 1998). La vitamine D₃ a un effet suppresseur sur la réponse immune de type Th₁ (Lemire *et al.*, 1995).

Une carence d'apport en fer, susceptible d'induire une anémie discrète, provoque une réduction sévère de la multiplication de *MAP* chez des souris C57 et C3H, par rapport à des témoins recevant des apports moyens ou élevés en fer. Ces effets sont observés quelle que soit la sensibilité génétique des souris (Lepper *et al.*, 1988). Par contre, la supplémentation en fer de la ration de bovins, lors d'infection expérimentale par *MAP*, ne permet pas de conclusions convaincantes (Lepper *et al.*, 1989).

Chez les bovins, la prolactine et l'hormone de croissance augmentent la multiplication intra-macrophagique de *MAP* (Feola *et al.*, 1999).

1.3.2. Dissémination de MAP dans l'organisme

1.3.2.1. Portes d'entrée et extension locale

Dans les conditions naturelles, la voie orale apparaît comme la voie de contamination majeure, sinon unique.

Après ingestion, *MAP* se localise primitivement aux amygdales et à l'intestin grêle (Payne et Rankin, 1961).

La pénétration de *MAP* a lieu préférentiellement dans l'intestin grêle (Sweeney *et al.*, 2006). La translocation de *MAP* serait assurée par les cellules M (cellules spécialisées dans la captation des antigènes présents dans la lumière intestinale), au niveau des plaques de Peyer. Dans la *lamina propria* du dôme des plaques de Peyer, les macrophages phagocytent les bacilles, puis les transportent de l'épithélium vers le tissu lymphoïde (Momotani *et al.*, 1988). La présence des deux tiers des follicules lymphoïdes au niveau iléal explique ainsi la localisation initiale du processus infectieux et lésionnel à l'intestin grêle distal. À partir de l'iléon, l'extension digestive est progressive, essentiellement vers le gros intestin. Cependant lors de forme clinique confirmée, l'atteinte rectale est rare (10 %) (Buergelt *et al.*, 1978).

À partir des formations lymphoïdes pariétales les macrophages transportent *MAP* vers les nœuds lymphatiques de drainage loco-régionaux.

1.3.2.2. Bactériémie

Dans un modèle expérimental d'inoculation intra-intestinale, la colonisation du foie et des nœuds lymphatiques est intervenue très rapidement (une heure après l'inoculation) (Wu *et al.*, 2007).

Dans les conditions naturelles, *MAP* peut être disséminé par voie lymphatique puis sanguine, probablement par les phagocytes mononucléés.

Des acides nucléiques de *MAP* ont été détectés par des techniques de PCR dans la fraction leucocytaire du sang, chez des ovins en phase clinique (Gwozdz *et al.*, 1997; Bhide *et al.*, 2006) et chez des bovins en phase asymptomatique ou clinique (Buergelt et Williams, 2004; Bhide *et al.*, 2006). Chez les bovins testés, les résultats positifs en PCR semblaient liés positivement à la détection d'anticorps sériques, avec de rares cas sur des bovins séronégatifs (Buergelt et Williams, 2004). Les cellules sanguines, supports de la détection positive par PCR, n'ont pas été identifiées.

La dissémination lymphatique et sanguine explique la contamination d'organes autres que digestifs, notamment le foie, la mamelle, les organes génitaux mâle et femelle ainsi que le fœtus.

Ainsi, l'isolement de *MAP* à partir d'organes extradigestifs est possible, y compris en l'absence de signes cliniques ou de lésions macroscopiques intestinales patentes (Antognoli *et al.*, 2008). L'existence d'une véritable bactériémie est démontrée indirectement par la présence de lésions sur des organes autres que digestifs, comme le foie par exemple (Antognoli *et al.*, 2008). La fréquence des bactériémies et le stade de l'infection auxquelles elles surviennent sont encore incomplètement connus.

1.3.3. Physiopathologie

MAP ne produit aucune toxine. Son rôle dans la genèse des lésions et des symptômes est donc lié à sa virulence propre et à la réaction inflammatoire avec sa composante immunitaire cellulaire qui semble en quelque sorte détournée de son objectif premier, la protection, et est ainsi à l'origine des effets cliniques.

1.3.3.1. Rôle des cytokines

Le rôle des cytokines bien qu'hypothétique est séduisant. L'injection répétée de TNF α recombinant à des bovins provoque une fonte des réserves adipeuses, une cachectisation progressive, de la diarrhée et une lymphopénie (Bielefeldt-Ohmann *et al.*, 1989). Le rôle de la cachectine lors de paratuberculose reste cependant à préciser.

La vitamine D₃, partie intégrante du mécanisme d'activation des macrophages (Rook, 1990), peut dans les cas extrêmes perturber l'homéostasie calcique, ce qui expliquerait les calcifications de la crosse aortique retrouvées dans certains cas avancés de paratuberculose.

Les hépatocytes stimulés de façon prolongée par l'IL1 produisent dans certains cas une protéine sérique amyloïde A, ce qui pourrait rendre compte des cas, cependant fort rares, d'amyloïdose (Rings et Garry, 1988).

1.3.3.2. Relation symptômes - lésions

Le rôle des réactions cellulaires dans l'apparition des symptômes est important et mieux connu.

La présence de mastocytes en grand nombre dans la *lamina propria* et autour des neurones myentériques, dans les formes asymptomatiques et cliniques (Buergelt *et al.*, 1978) est à relier à la réponse de type Th₂. Des précisions sur la nature des sous-populations mastocytaires (muqueuse ou conjonctive) et sur le statut parasitaire des bovins examinés sont cependant nécessaires.

Les cellules mononucléées ont un rôle évident dans l'apparition des symptômes, peut-être indirectement par la sécrétion de différentes cytokines, mais surtout directement par l'infiltration de la muqueuse et de la sous-muqueuse intestinales, responsable, entre autres, des lésions macroscopiques.

L'envahissement tissulaire :

- perturbe les échanges vasculaires sanguins et lymphatiques, comme en témoignent les lésions de lymphangiectasie observées sur les plans microscopique et parfois macroscopique ;
- provoque un raccourcissement et un élargissement des villosités allant jusqu'à une atrophie marquée.

L'ensemble de ces éléments lésionnels concourt à une malabsorption entérocytaire et post-entérocytaire des nutriments, responsable pour une large part de la diarrhée (Chiodini *et al.*, 1984). La lienterie (présence d'éléments non digérés dans les fèces) parfois observée, procéderait des mêmes mécanismes. Le gros intestin, tant qu'il n'est pas atteint, peut cependant compenser les pertes d'eau par une résorption accrue.

Les lésions intestinales sont à l'origine de perturbations graves du métabolisme protéique, avec :

- une réduction sévère de l'absorption des acides aminés (Allen *et al.*, 1974a) ;
- des fuites massives de protéines plasmatiques dans l'intestin (Patterson *et al.*, 1967).

Dans un premier temps, des phénomènes compensatoires se mettent en place par augmentation des synthèses hépatiques. La diminution de la protéosynthèse et l'accroissement du catabolisme musculaire compensateur expliquent l'émaciation progressive. En phase terminale, le bilan protéique se négative (Allen *et al.*, 1974b) avec hypoprotéïnémie et hypoalbuminémie responsables de l'apparition d'œdèmes, par diminution de la pression oncotique.

La réaction de l'hôte à l'infection par *MAP* est de mieux en mieux connue, notamment à l'échelle moléculaire. En effet, la réponse immunitaire innée ou adaptative a été explorée afin :

- de mieux comprendre les mécanismes de réceptivité/sensibilité ;
- de développer des tests diagnostiques.

Schématiquement, l'infection par *MAP* peut être maîtrisée partiellement ou totalement par la réaction immunitaire, caractérisée alors par une polarisation de type Th1. L'équilibre peut être rompu au détriment de l'hôte et à l'avantage de *MAP*, avec en conséquence l'excrétion de *MAP* et éventuellement dans certains cas une expression clinique. La polarisation de la réponse immunitaire est alors de type Th2, associée à la production d'anticorps non protecteurs. Lors d'une infection naturelle par *MAP*, ces phases immunitaires peuvent se succéder voire se superposer, au moins à certaines périodes.

La régulation des interactions entre l'hôte et *MAP* est complexe et reste encore mal connue.

Les facteurs qui conditionnent, d'une part, la réceptivité et, d'autre part, la sensibilité sont mal déterminés, notamment en ce qui concerne les rôles respectifs :

- de la virulence de *MAP* ;
- des modalités d'exposition (doses, répétition) ;
- des facteurs immunitaires, notamment leur développement au cours de la vie post-natale, leur déterminisme génétique, et leur interaction avec différents facteurs extrinsèques liés au cycle de production et à l'alimentation.

Les informations tirées des modèles expérimentaux sur les espèces cibles (notamment bovine et ovine) souffrent d'un certain nombre de limites, liées en particulier :

- à la longue durée d'incubation, qui conduit souvent à abréger les observations sur les animaux inoculés ;
- aux modalités d'inoculation qui ne miment pas nécessairement la probable diversité des modalités d'exposition naturelle ;
- aux difficultés d'exploration sur le plan immunitaire ou génétique.

Après ingestion, *MAP* se multiplie dans la paroi des segments terminaux de l'intestin grêle avec une excrétion majeure par les fèces. Une dissémination de la bactérie est possible vers différents organes extradiigestifs, ce qui peut expliquer sa présence dans les sécrétions mammaires ou la transmission verticale *in utero*.

Les lésions d'entérite avec infiltration pariétale cellulaire massive sont à l'origine d'une diarrhée par malabsorption essentiellement post-entérocytaire. L'entérite diarrhéique s'accompagne d'une perturbation majeure du métabolisme protéique, caractérisée en phase terminale par une fonte musculaire sévère et une forte diminution de la concentration des protéines sanguines.

1.4. Épidémiologie de la maladie et de l'infection

Les informations disponibles sur l'épidémiologie de la paratuberculose animale sont relativement peu nombreuses, en particulier chez les petits ruminants. Elles sont en outre limitées par les capacités d'investigation (enquêtes coûteuses, lourdes à mettre en œuvre), et par les caractéristiques (sensibilité, spécificité) des tests de laboratoire. Dans ce paragraphe sont repris les éléments connus chez les bovins, surtout laitiers, et, lorsque l'information sera disponible, chez les petits ruminants.

1.4.1. Épidémiologie descriptive

1.4.1.1. Répartition géographique

Depuis sa description, la paratuberculose a été signalée sur tous les continents (Thorel, 2003 ; Salem *et al.*, 2005). Sa répartition géographique est donc mondiale. Cependant, dans la plupart des pays, son importance est probablement sous-estimée en l'absence de déclaration obligatoire de la maladie. Les données relatives à cette maladie demeurent parcellaires (Vialard, 2002a), car les enquêtes à grande échelle font défaut, le diagnostic et le dépistage de cette maladie restent difficiles et la sensibilisation à ses effets très hétérogène. Globalement, la maladie semble concerner plus particulièrement l'Amérique du Nord et l'Europe, ainsi que l'Australie, tant

Des enquêtes peuvent donner l'impression que certains bassins sont plus infectés que d'autres, mais elles dépendent fortement de la sensibilisation des acteurs de terrain sur les zones considérées, ce qui a tendance à biaiser les chiffres de prévalence, et peut-être sous-estimer la fréquence de la maladie dans les troupeaux allaitants. Les races laitières semblent plus sensibles que les races allaitantes, et parmi les allaitantes, certaines semblent plus atteintes que les autres (par exemple la Limousine comparée à la Charolaise) (Vialard, 2002a), sans que l'on soit capable de relier cette constatation à une sensibilité particulière ou bien à des cofacteurs d'élevage.

Peu de données sont disponibles concernant les petits ruminants. En Australie, par exemple, où la maladie a été reconnue pour la première fois en 1980, la prévalence de la paratuberculose ovine est estimée à 2-4 % des cheptels (Sergeant et Baldock, 2002). La mortalité due à la paratuberculose (pourcentage d'animaux morts dans l'année en raison d'une infection paratuberculeuse) y a toutefois été estimée à 6-7 % (Bush *et al.*, 2006). Chez la chèvre, les données sont encore plus fragmentaires (Khodakaram Tafti et Rashidi, 2000).

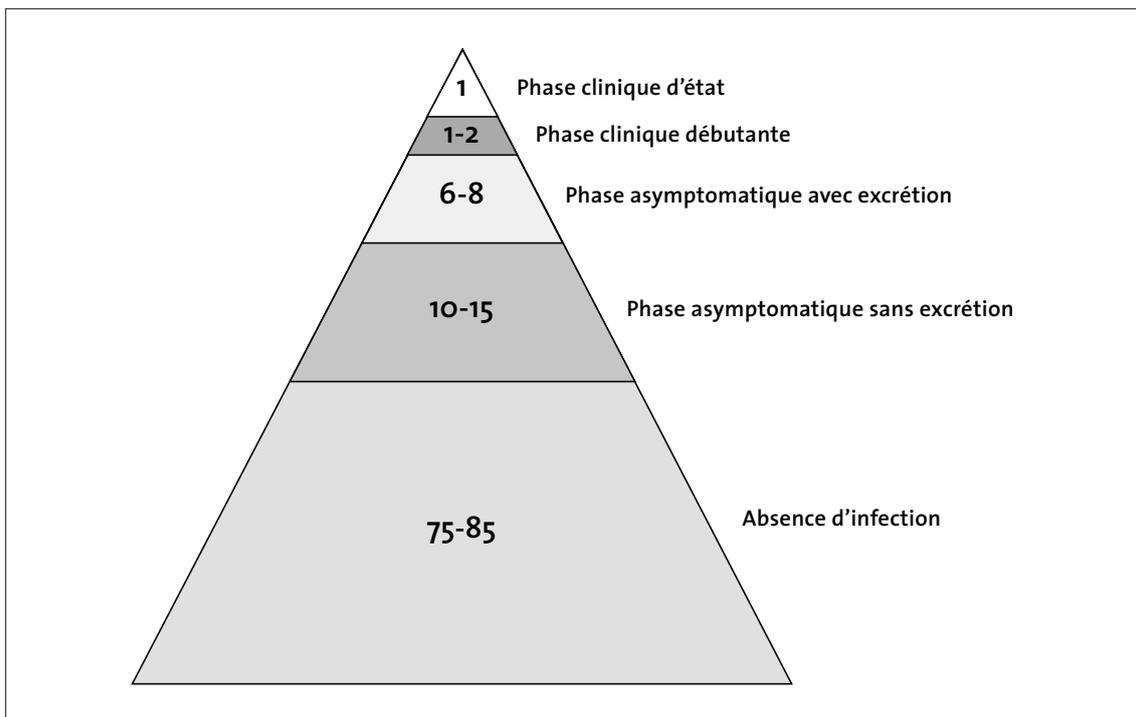
Prévalence individuelle au sein des troupeaux infectés

En général, la paratuberculose s'exprime au sein d'un cheptel de façon **sporadique ou enzootique** : quelques animaux, le plus souvent adultes, présentent les symptômes évocateurs, et voient leur état se dégrader en quelques mois. Les niveaux de morbidité et de mortalité sont fortement influencés par les conditions d'élevage, notamment le niveau d'hygiène (Whittington et Sergeant, 2001).

Quatre stades de l'infection et de la maladie ont été décrits chez les ruminants. Au sein d'un troupeau infecté, les quatre stades coexistent dans des proportions assez constantes ; ainsi, l'animal exprimant cliniquement la maladie est-il classiquement considéré comme la « partie émergée de l'iceberg ».

Dans les cheptels durablement infectés (au moins un cas clinique par an sur deux ans), les animaux peuvent être répartis en cinq catégories qui sont présentées à titre indicatif dans la figure 2.

Figure 2 : Répartition moyenne, en fonction de la clinique et de l'excrétion, des animaux de cheptels durablement infectés



Les chiffres, relatifs à des troupeaux infectés et exprimés en pourcentage moyen, sont donnés à titre indicatif, les proportions ayant été établies à dire d'expert.

1.4.2. Épidémiologie analytique

1.4.2.1. Espèces sensibles à la maladie

La paratuberculose affecte surtout les ruminants domestiques et sauvages. Elle a été décrite d'abord chez les bovins, puis chez les ovins et plus tardivement chez les caprins.

Elle atteint également naturellement de nombreuses autres espèces de ruminants (bisons, buffles, cerfs, chevreuils, daims, élans, mouflons) ainsi que les espèces exotiques de ruminants dans les parcs zoologiques, les camélidés, et même les primates non humains (McClure *et al.*, 1987).

1.4.2.2. Mise en évidence de MAP chez d'autres espèces

MAP a été également isolé d'animaux ne présentant pas de lésion macro ou microscopique évocatrice de paratuberculose-maladie; il s'agit d'animaux présents dans l'environnement de ruminants infectés tels que des rongeurs, des lapins sauvages, leurs prédateurs naturels (carnivores comme les renards, belettes, hermines) ou des charognards occasionnels (corvidés) (Manning et Collins, 2001; Daniels *et al.*, 2003). La bactérie a été également isolée d'organes de chats sauvages présents sur une exploitation laitière (Palmer *et al.*, 2005). Les souches isolées chez les carnivores proviennent apparemment de ruminants domestiques (Vialard, 2002a; Palmer *et al.*, 2005).

1.4.2.3. Sources d'infection et matières virulentes

Le réservoir principal apparaît constitué par les ruminants domestiques; il est peu probable que d'autres espèces, les ruminants sauvages par exemple, jouent un rôle majeur dans le cycle de la maladie. Leur contamination, phénomène sporadique, est probablement un témoin de l'infection des ruminants domestiques.

Les fèces des animaux malades ou infectés asymptomatiques excréteurs intermittents constituent la principale source d'infection, cette excrétion pouvant être détectée jusqu'à un à deux ans avant l'apparition des symptômes (Whitlock, 2002). MAP peut être excrété en grand nombre par ces animaux: 10^2 à 10^8 germes par gramme de fèces, selon le stade évolutif (Vialard, 2002a; Palmer *et al.*, 2005). MAP est présent à de fortes concentrations dans les matières fécales des animaux en phase clinique d'état (excrétion ++) ou terminale (excrétion +++ : plusieurs milliards de MAP par jour) (Sweeney, 1996).

Ces animaux contaminent ainsi abondamment par leurs fèces leur environnement, lequel peut alors devenir source de contamination : eau ou aliment, pâtures, sols et murs des stabulations, mamelles des mères. La persistance de cette contamination est liée à la résistance de l'agent dans l'environnement.

Le lait et le colostrum peuvent être contaminés par les matières fécales (de l'animal lui-même ou d'autres animaux du troupeau *via* l'environnement) et peuvent alors être vecteurs d'infection lors de la tétée ou de la traite. Ainsi, si 3 % des animaux faiblement excréteurs dans les fèces ont un lait contaminé par MAP, c'est le cas de 19 % des vaches asymptomatiques fortement excrétrices et de 35 % des animaux malades (Sweeney *et al.*, 1992). MAP a été aussi retrouvé dans le colostrum de 9 % des animaux asymptomatiques faiblement excréteurs et de 36 % des asymptomatiques fortement excréteurs (Streeter *et al.*, 1995).

Le matériel contaminé (seau, matériel de distribution d'aliment, bottes et vêtements des soigneurs) pourrait remplir le rôle de vecteur passif, de même que des insectes qui ont été retrouvés porteurs de MAP (Fischer *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2003; Fischer *et al.*, 2004).

MAP peut être également isolé d'autres excréments et sécrétions, notamment des liquides utérins de bovins infectés (Larsen *et al.*, 1981).

MAP a également été retrouvé dans le sperme de taureau ou de bélier, mais la charge infectieuse y était insuffisante pour assurer l'infection de la femelle lors de la saillie (Eppleston et Whittington, 2001; Vialard, 2002a).

1.4.2.4. Modes de contamination

Contamination intra-spécifique horizontale, par ingestion

La voie oro-fécale est la principale voie de transmission, entre adulte et jeune.

La plupart des infections par MAP interviennent pendant la période néonatale : le veau se contamine lors de la prise de colostrum par tétée à la mamelle, l'infection étant souvent liée à la contamination fécale de la mamelle ou des trayons. MAP peut aussi être transmis par la buvée colostrale ou de lait de bovins en phase clinique d'état ou terminale, par ingestion de lait ou colostrum contaminé (*cf.* figure 3). Les mères symptomatiques, en présentant un niveau d'excrétion plus important, peuvent favoriser la transmission aux jeunes. Ainsi, 20-40 % des veaux nés de mères présentant des symptômes sont contaminés, tandis que 9-18 % des veaux nés de mères asymptomatiques le sont (Sweeney *et al.*, 1992; Streeter *et al.*, 1995; Sweeney, 1996).

Il existe une contamination possible à partir de l'environnement, notamment après contamination de ce dernier par des animaux excréteurs; ainsi, les boxes de vêlage utilisés successivement au cours d'une saison, sans désinfection efficace, peuvent ainsi concourir à la contamination des nouveau-nés, même lorsque la mère n'est pas elle-même infectée. D'autres modalités de transmission (EFSA, 2004), épandage de fumier ou de lisier sur les pâtures, ont été évoquées, mais elles ont un rôle épidémiologique probablement très limité, sinon nul.

Contamination intra-spécifique verticale (materno-fœtale)

Une transmission verticale *in utero* a été décrite. Son importance relative reste cependant à préciser, cette probabilité de transmission étant significativement plus importante chez une femelle gestante en phase clinique (Sweeney *et al.*, 1992; Streeter *et al.*, 1995; Sweeney, 1996; Lambeth *et al.*, 2004).

Contamination inter-spécifique

La transmission de *MAP* des animaux domestiques aux animaux sauvages a été plusieurs fois documentée, mais pas le contraire (Manning et Collins, 2001; Vialard, 2002a; Daniels *et al.*, 2003). Quelques cas de transmission des bovins aux petits ruminants (et *vice-versa*) sont soupçonnés sur la base de la caractérisation des souches retrouvées (Sergeant, 2001; Sevilla *et al.*, 2007).

1.4.2.5. Facteurs de réceptivité et de sensibilité

Facteurs intrinsèques

Âge

La probabilité pour un ruminant d'exprimer la maladie est d'autant plus importante que la contamination se produit dans le jeune âge.

Une contamination à l'âge adulte est également possible, mais l'expression de la paratuberculose chez ces animaux se limite généralement au stade d'excréteur asymptomatique (Larsen *et al.*, 1975; Whittington et Sergeant, 2001; Rast et Whittington, 2005).

Stade physiologique

L'état physiologique peut moduler l'expression clinique: la gestation s'accompagne souvent d'une rémission momentanée des symptômes avec reprise de l'évolution à la faveur de la mise bas. De même, les cas de paratuberculose-maladie sont plus fréquemment observés chez les vaches hautes productrices, compte tenu des contraintes physiologiques, notamment lors du pic de lactation.

Facteurs extrinsèques

Les facteurs d'élevage sont des facteurs de risque classiquement évoqués dans la réceptivité et la sensibilité à la paratuberculose.

La prévalence augmente avec la taille du troupeau et l'introduction par achat d'animaux en particulier de statut inconnu au regard de l'infection. L'achat d'animaux constitue un risque significatif d'introduction de la maladie dans un élevage: aux États-Unis d'Amérique, les élevages laitiers « ouverts » sont ainsi significativement plus souvent infectés que les élevages « fermés » pratiquant l'auto-renouvellement (Wells et Wagner, 2000). Si l'introduction dans un élevage initialement indemne se fait principalement par achat d'animaux infectés inapparents (Sweeney, 1996), les facteurs de risque présents dans l'élevage acheteur peuvent conduire ou non à une expression clinique.

Parmi les facteurs favorisant l'infection des animaux au sein du troupeau, un certain nombre relève directement de la conduite d'élevage (McKenna *et al.*, 2006).

L'élevage des veaux au contact des mères (notamment dans le même bâtiment) accroît le risque de contamination, de même que l'utilisation de boxes de vêlage non lavés et/ou non désinfectés. De même, l'élevage en groupe des veaux avant sevrage semble associé à une infection plus fréquente (Wells et Wagner, 2000).

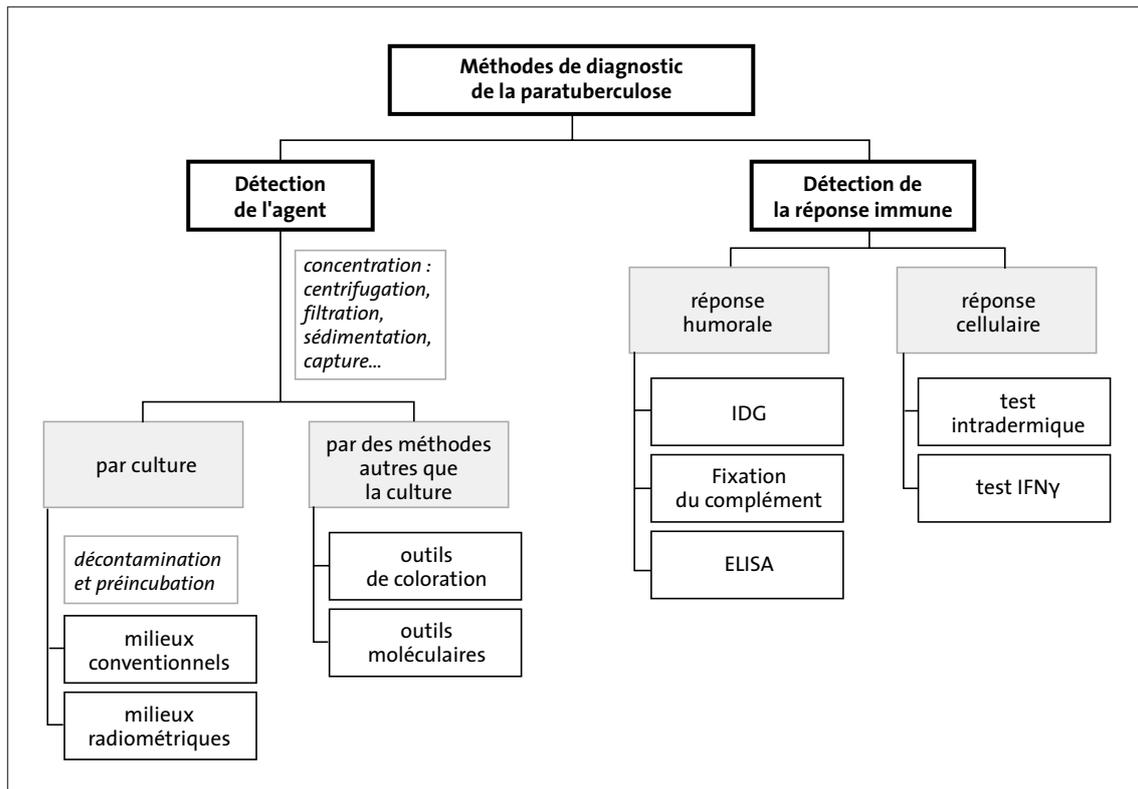
La contamination directe de l'eau d'abreuvement (abreuvoirs non protégés, eau distribuée en bacs) ou de l'aliment (mangeoire, front d'attaque du silo) par des fèces contaminées est possible. De même, on peut assister à la contamination de l'aliment par l'utilisation d'un même matériel pour manipuler fumier et aliment (fourche, *etc.*).

L'absence de maîtrise des déjections (stockage de fumier ou du lisier, écoulement) constitue un facteur de risque non négligeable, de même que l'épandage sur des parcelles accueillant des jeunes bovins.

1.5. Les méthodes de dépistage et de diagnostic de la paratuberculose

De nombreuses méthodes de dépistage et de diagnostic de la paratuberculose sont décrites dans la littérature. D'une façon générale, les outils disponibles reposent soit sur la détection de la bactérie, soit sur la mise en évidence de la réaction immunitaire (cellulaire ou humorale) induite chez l'hôte par MAP. Les outils disponibles sont souvent peu sensibles et parfois peu spécifiques. Autant la confirmation au laboratoire d'une forme clinique (diagnostic) de paratuberculose apparaît aisée, autant la détection des animaux porteurs, excréteurs ou non (dépistage), est plus délicate, les porteurs non excréteurs restant très difficilement identifiables (cf. figure 4).

Figure 4: Représentation des principales méthodes de diagnostic/dépistage disponibles pour la paratuberculose



1.5.1. Particularités du diagnostic et du dépistage de la paratuberculose

1.5.1.1. Difficultés d'évaluation des performances intrinsèques des tests de diagnostic et de dépistage

La sensibilité et la spécificité sont deux paramètres permettant d'évaluer les performances d'un test de diagnostic/dépistage mais leur détermination précise, dans le cadre de la paratuberculose, est rarement possible en pratique.

En effet, pour déterminer la spécificité, une population importante d'animaux certainement non infectés par MAP est nécessaire. Il est très difficile, en pratique, de s'assurer de ce statut. De plus, le niveau de sensibilisation des animaux par d'autres mycobactéries pouvant engendrer des réactions croisées, notamment sérologiques, peut varier éminemment d'un groupe ou d'une population à l'autre et ne peut être évalué précisément.

Pour déterminer la sensibilité, il convient, de la même manière, de disposer d'une population suffisamment importante d'animaux infectés. Or, une telle population est susceptible de contenir une proportion d'animaux cliniquement atteints prépondérante ou en tout cas importante et donc biaisée par rapport à une population habituelle. Il est donc essentiel de toujours considérer les valeurs de spécificité et de sensibilité obtenues dans les diverses études avec prudence, en tenant compte de la manière dont elles ont été déterminées et des caractéristiques des populations effectivement étudiées.

Les études reposant sur une infection expérimentale comportent également des biais. Elles ne peuvent en effet reproduire toutes les formes potentiellement rencontrées sur le terrain. Lorsque le protocole expérimental est établi de manière à reproduire la maladie sur la majorité des animaux éprouvés, il conduit généralement à surestimer la sensibilité des tests évalués.

1.5.1.2. Conséquences de la physiopathologie sur le diagnostic et le dépistage

Chez l'animal, la réponse tissulaire de l'organisme varie au niveau individuel. Les lésions dites « tuberculoïdes » ou « granulomateuses » contiennent peu de bactéries et peu de granulomes. Les animaux à formes tuberculoïdes (première phase lésionnelle) sont fortement résistants à la maladie et produisent une réponse cellulaire importante, protectrice mais souvent de façon incomplète. À l'inverse, dans les lésions dites « lépromateuses » (multi-bacillaires), on peut observer un grand nombre de bactéries associées à un grand nombre de cellules épithélioïdes voire de cellules géantes, dites de Langhans. La réponse de type « lépromateux » est plus fréquente chez les animaux ayant une faible résistance à la maladie. Ceux-ci montrent une faible réponse cellulaire et plus volontiers une réponse humorale, non protectrice. Chez les animaux développant une forme clinique de paratuberculose, les phases tuberculoïdes et lépromateuses se succèdent dans le temps, avec des phases intermédiaires entre les deux formes. Ainsi, dans un même troupeau, les animaux infectés peuvent présenter les différentes formes de réponse immunologique et lésionnelle sur toutes les positions du spectre entre forme tuberculoïde et lépromateuse. La chronologie de ces événements a des conséquences sur le diagnostic de l'infection.

La paratuberculose est une des maladies infectieuses dont l'identification (*i.e.* diagnostic et dépistage) présente le plus de difficultés et le plus de risques d'erreurs. En effet, l'usage des tests et l'interprétation des résultats sont délicats compte tenu de la longueur de l'incubation, de la complexité de la physiopathologie de cette affection (interactions hôte/bactérie) mais aussi de la multiplicité des tests qui sont actuellement disponibles.

Il est important de ne pas aborder cette maladie sur le plan du diagnostic et du dépistage comme on peut le faire avec des infections comme la brucellose, l'IBR ou encore la BVD. Il est essentiel de comprendre que les tests directs et indirects utilisables pour la paratuberculose n'explorent pas des événements synchrones. L'intermittence de la présence de *MAP* dans les fèces et les fluctuations des taux d'anticorps couplées aux limites intrinsèques des tests contribuent à créer une multiplicité de situations, tant à l'échelle individuelle que collective, souvent assimilées à tort à des incohérences entre les méthodes d'analyses.

Les performances des outils disponibles au laboratoire ne sont ni meilleures ni moins bonnes que celles des tests employés pour d'autres maladies infectieuses du bétail. Ce sont essentiellement les particularités de la paratuberculose qui en limitent notamment les valeurs prédictives, surtout à l'échelle individuelle.

1.5.2. Diagnostic direct

Une des difficultés de l'utilisation des méthodes directes tient au fait que l'excrétion fécale de *MAP* par les animaux est évolutive, d'abord nulle (animaux récemment infectés non excréteurs), puis intermittente, et enfin permanente en quantité croissante jusqu'à une éventuelle phase clinique.

Il est possible que *MAP* soit, de façon exceptionnelle, détecté à l'occasion d'un transit passif. Ce phénomène n'a pas de valeur épidémiologique.

1.5.2.1. Bactérioscopie

L'examen microscopique consiste à visualiser *MAP* sur des frottis de matières fécales issues d'animaux vivants ou d'organes le plus souvent au décours d'autopsie (valvule iléo-cæcale ou nœuds lymphatiques mésentériques) en mettant en œuvre la coloration de Ziehl-Neelsen, coloration spécifique des mycobactéries. Les bactéries mises en évidence sont dites « bacilles acido-alcoolo résistants » ou BAAR. Le résultat obtenu par cette technique est uniquement qualitatif et correspond à l'observation ou non d'amas de BAAR.

Cette technique souffre d'un manque de sensibilité en cas de diarrhée profuse (effet de dilution) ou d'un niveau d'excrétion inférieur à 10^5 - 10^6 bacilles par gramme de fèces (excréteurs asymptomatiques) et d'un manque de spécificité du fait de l'impossibilité de distinguer morphologiquement *MAP* des autres mycobactéries éventuellement présentes dans l'échantillon. Toutefois, la présence d'amas est considérée comme très caractéristique de l'infection à *MAP*.

Par bactérioscopie sur fèces, la moitié environ des animaux présentant des signes cliniques évocateurs sont confirmés.

On peut estimer que la sensibilité de la bactérioscopie est très supérieure lorsqu'elle est réalisée sur les intestins (partie terminale de l'iléon) et les ganglions iléo-cæcaux lésés (zone corticale), lors d'autopsie d'animaux cliniquement atteints.

1.5.2.2. Histopathologie

L'examen histopathologique ne peut être réalisé qu'au décours d'une autopsie sur des coupes de muqueuse iléo-cæcale ou de nœuds lymphatiques mésentériques. Les coupes de tissus fixés dans le formol sont colorées à l'hémalun-éosine-safran pour la recherche des cellules épithélioïdes et par la coloration de Ziehl-Neelsen permettant de visualiser les bacilles. Plus sensible que la bactérioscopie, cette méthode assez coûteuse présente un caractère aléatoire dans la mesure où les répartitions des lésions varient selon les individus.

1.5.2.3. Culture

La culture est effectuée le plus souvent à partir de fèces (coproculture), mais elle peut aussi l'être à partir d'autres prélèvements biologiques comme les tissus (intestins ou ganglions lymphatiques) ou le lait.

Coproculture

La mise en culture des fèces nécessite un traitement préalable de l'échantillon à analyser, incluant une étape de concentration de *MAP*, associée à une étape de décontamination de l'échantillon, destinée à détruire la majorité des autres microorganismes pouvant influencer sur le résultat final. Différentes méthodes de sédimentation et de concentration sont décrites : centrifugation, filtration ou encore immuno-capture. Il existe des différences de sensibilité analytique selon la méthode utilisée et les souches impliquées.

Classiquement, les milieux utilisés sont les milieux de Herrold ou de Löwenstein-Jensen, additionnés de mycobactine, facteur de croissance essentiel à *MAP*. La norme actuelle (Isolement et identification de *MAP* à partir de prélèvements -fèces ou organes- de ruminants, NF U47-103) préconise une sédimentation suivie d'une décontamination au chlorure de cétylpyridinium des fèces, puis un ensemencement de trois tubes de milieu de Herrold avec mycobactine et d'un tube de milieu de Herrold sans mycobactine.

En raison de l'extrême lenteur de croissance de *MAP*, les premières colonies apparaissent en général entre 8 et 12 semaines. Aussi, un résultat négatif définitif ne peut être obtenu qu'après 18 semaines d'incubation. Les souches ovines et probablement d'autres souches issues d'espèces non bovines peuvent être difficiles à cultiver sur la plupart des milieux de culture standard, notamment le milieu de Herrold.

Des méthodes de culture plus rapides, seules ou associées à une technique de détection moléculaire, sont en cours de développement (Bactec 960, MGIT, MBBact). Ces méthodes reposent sur la détection soit d'un radio-isotope libéré au cours du métabolisme bactérien, soit, pour les méthodes les plus récentes, sur la détection d'un signal de fluorescence proportionnel à la quantité d'oxygène consommée dans le milieu par l'organisme en croissance.

Culture à partir d'organes

Les méthodes utilisées pour la mise en culture des organes sont similaires à celles décrites pour les fèces si ce n'est que les organes sont soumis au préalable à une lyse mécanique et à un traitement à la trypsine avant l'étape de décontamination en chlorure de cétylpyridinium (isolement et identification de *MAP* à partir de prélèvements - fèces ou organes - de ruminants, NF U47-103).

Culture à partir du lait

La présence de *MAP* dans le lait résulte essentiellement d'une contamination fécale et l'usage de cette matrice ne se justifie pas dans une démarche de diagnostic ou de dépistage.

Tout comme les fèces, le lait ainsi que ses produits dérivés doivent être décontaminés avant leur ensemencement. En raison de la différence du niveau d'infection observée entre le lait et les fèces (< 10² bacilles par millilitre de lait vs. jusqu'à 10⁸ bacilles par gramme de fèces pour un animal en phase clinique), le mode de décontamination utilisé est d'une importance cruciale pour la mise en évidence du germe. Il n'y a pas de méthode universellement acceptée pour la décontamination et la culture. Néanmoins, une centrifugation associée à une décontamination chimique est le plus souvent mise en œuvre.

De nouvelles approches ont été développées avec plus ou moins de succès : absence de l'étape de décontamination ou encore séparation préalable à l'aide de billes immuno-magnétiques, mais jusqu'à présent cela n'a présenté d'intérêt que pour le lait collecté de manière aseptique et renfermant une microflore limitée.

Là encore, des différences de sensibilité analytique ont été rapportées. La présence de *MAP* a pu être détectée dans 40 ml de lait artificiellement contaminé par dix bacilles. Quelle que soit la méthode appliquée, la totalité des bacilles présents dans un échantillon de lait n'est pas retrouvée.

1.5.2.4. Réaction de polymérisation en chaîne

La technique de polymérisation en chaîne (PCR) consiste à détecter la présence d'un fragment d'ADN spécifique de *MAP*, après une étape d'amplification. Cette technique peut être mise en œuvre à partir des mêmes prélèvements que ceux utilisés pour la culture bactériologique classique. Théoriquement, la PCR devrait permettre de détecter un très faible nombre de bactéries. Toutefois, au plan pratique, ses performances actuelles, en termes de sensibilité, sont considérées comme équivalentes à celles de la coproculture. La technique PCR permet néanmoins d'obtenir un résultat plus rapide, sous 48 heures. La PCR en temps réel a récemment été appliquée au diagnostic de la paratuberculose. Les séquences ciblées sont les mêmes que celles utilisées en PCR conventionnelle. Par rapport à la PCR conventionnelle, la PCR en temps réel offre l'avantage d'être plus rapide, avec des risques de contamination restreints. Des kits commerciaux sont disponibles.

PCR sur fèces

De nombreux protocoles sont décrits permettant la détection de *MAP* par PCR à partir des fèces. Tandis que les premiers essais reposaient sur une détection directe de *MAP* à partir du prélèvement, l'ensemble des protocoles proposés actuellement incluent une étape préalable d'extraction de l'ADN, étape clé pour l'amélioration de la sensibilité de la technique.

Les protocoles décrits pour l'extraction-concentration de *MAP* directement à partir des fèces, font appel à différentes méthodes (dilution-centrifugation, séparation à l'aide de billes magnétiques, filtration, hybridation-capture, etc.). Une ribolyse des échantillons avant l'étape d'extraction de l'ADN permet ensuite d'améliorer le rendement de l'extraction. Les sensibilités analytiques des différents protocoles proposés varient de 50 à 100 bacilles par gramme.

La présence, assez fréquente, d'inhibiteurs de la réaction d'amplification dans les matières fécales constituait un inconvénient majeur pour cette technique, des animaux pouvant être ainsi faussement diagnostiqués négatifs. L'amélioration des techniques d'extraction a permis d'éliminer la majorité de ces inhibiteurs et des contrôles internes systématiques permettent dorénavant de mettre en évidence leur présence éventuelle.

PCR sur lait

Compte tenu de la sensibilité comparable de la PCR et de la culture, l'utilisation du lait conduit aux mêmes réserves que celles exprimées précédemment.

Des protocoles ont également été décrits pour la détection directe de *MAP* dans le lait. Ces protocoles incluent un pré-enrichissement à l'aide de billes magnétiques, l'agent couplé aux billes pouvant être un sérum polyclonal ou des peptides spécifiques. La détectabilité rapportée sur des laits contaminés artificiellement est de 10 à 100 bactéries par millilitre.

La majorité des protocoles décrits pour la PCR ciblent la séquence d'insertion *IS 900* bien représentée dans le génome de *MAP* (14 à 18 copies). L'ensemble des kits commerciaux disponibles repose sur la détection de cette séquence d'insertion.

Récemment, des séquences apparentées à cet élément d'insertion ont été mises en évidence chez plusieurs mycobactéries : *Mycobacterium scrofulaceum* ; *Mycobacterium cookii* ou encore *Mycobacterium porcinum*. L'interprétation des résultats sur la seule base des résultats PCR ciblant l'élément d'insertion *IS 900* doit donc être faite avec précaution. L'usage du terme *MAP-like* par certains auteurs pour faire référence à la détection de cette séquence et non à l'identification spécifique de *MAP* est sans doute abusif (Feller *et al.*, 2007).

D'autres cibles moléculaires sont décrites (*ISMav2*, *ISMAPo2*, *F57*) mais, à ce jour, aucune étude approfondie n'a été réalisée pour évaluer la spécificité de ces séquences.

Enfin, il faut rappeler que la présence de *MAP* dans le lait résulte essentiellement d'une contamination fécale et l'usage de cette matrice ne se justifie pas dans une démarche de diagnostic ou de dépistage.

1.5.3. Diagnostic indirect

Ces techniques permettent le dépistage précoce des animaux infectés mais ne permettent pas de prévoir si l'animal à réponse positive va évoluer vers une forme clinique ou, au contraire, va maîtriser le processus infectieux.

1.5.3.1. Mesure de la réponse cellulaire

La réaction immunitaire cellulaire déclenchée par l'infection à *MAP* comporte un volet d'hypersensibilité retardée de type IV qui peut être révélée *in vivo* ou *in vitro* par de nombreuses techniques dont le test intradermique, le test de transformation lymphoblastique, le test d'inhibition de migration et le dosage de l'interféron gamma. Dans ce rapport, seuls le test intradermique et le dosage de l'interféron seront évoqués.

Cette réponse est inconstante, elle apparaît précocement après l'infection et disparaît au bout de quelques mois. Elle est ainsi le plus souvent négative chez des animaux présentant des signes cliniques.

Le test intradermique (IDC)

Le test intradermique est utilisé depuis de nombreuses années pour le diagnostic de la tuberculose bovine. D'une façon générale, ce test consiste à administrer par voie intradermique une suspension d'extraits mycobactériens et à examiner si, après 72 heures, une réaction inflammatoire s'est produite au site d'injection.

Dans le cas de la paratuberculose, un renflement de la peau de plus de trois millimètres est considéré comme une réaction positive. L'idéal est de procéder avec de la Johnine (un extrait de *MAP*), mais à défaut, une intradermotuberculation comparative (IDC) peut être réalisée. Celle-ci consiste à comparer l'intensité de réaction obtenue avec la tuberculine aviaire et la tuberculine bovine, administrées simultanément en deux points distincts. L'IDC ayant une spécificité médiocre, une réaction importante vis-à-vis de la tuberculine aviaire confirme seulement que l'animal a été en contact avec une mycobactérie appartenant au groupe *avium*.

Une autre difficulté liée à ce test est la variabilité des réponses en fonction des troupeaux et de l'âge des animaux.

Le test interféron gamma

Reposant sur un principe similaire mais réalisable *in vitro*, le dosage de l'interféron gamma offre une alternative à l'IDC. Ce test consiste à stimuler des cellules sanguines avec un extrait mycobactérien et à doser, par une technique ELISA, le taux d'interféron gamma relargué dans le milieu de culture étant d'autant plus important que les lymphocytes ont été sensibilisés par un contact antérieur.

Avec la Johnine, la spécificité et la sensibilité de ce test ont été respectivement estimées à 95-99 % et 50-90 %, en fonction de l'âge de l'animal.

En effet, il semble que la spécificité du test soit réduite chez les jeunes animaux. Un niveau d'interféron gamma inductible par une gamme variée de stimulus mais aussi le fait que certains animaux seraient capables d'éliminer l'infection tout en conservant des traces biologiques de cet événement sont des explications proposées, sans qu'il n'y ait de données pour étayer cette hypothèse. Dans le contexte d'une étude (McDonald *et al.*, 1999), tous les animaux témoins et donc non infectés ont été diagnostiqués positifs par ce test, au moins une fois sur la durée de l'étude. Les résultats obtenus sont souvent difficilement interprétables, limitant l'application de cette technique pour le diagnostic chez de jeunes animaux.

Par ailleurs, ce test ne permet pas d'estimer le risque de passage à la phase d'infection installée, voire clinique, d'un animal à réponse positive.

1.5.3.2. Mesure de la réponse humorale

De nombreuses méthodes sérologiques ont été développées pour la détection de la réponse immune humorale induite par *MAP*. Les qualités de ces techniques sont toutes très dépendantes de la spécificité des antigènes utilisés.

L'immunodiffusion en gélose et la technique de fixation du complément sont des tests qui ont été utilisés par le passé mais qui, en raison d'un défaut de sensibilité, de spécificité ou d'indisponibilité en antigènes, ont été abandonnés en France.

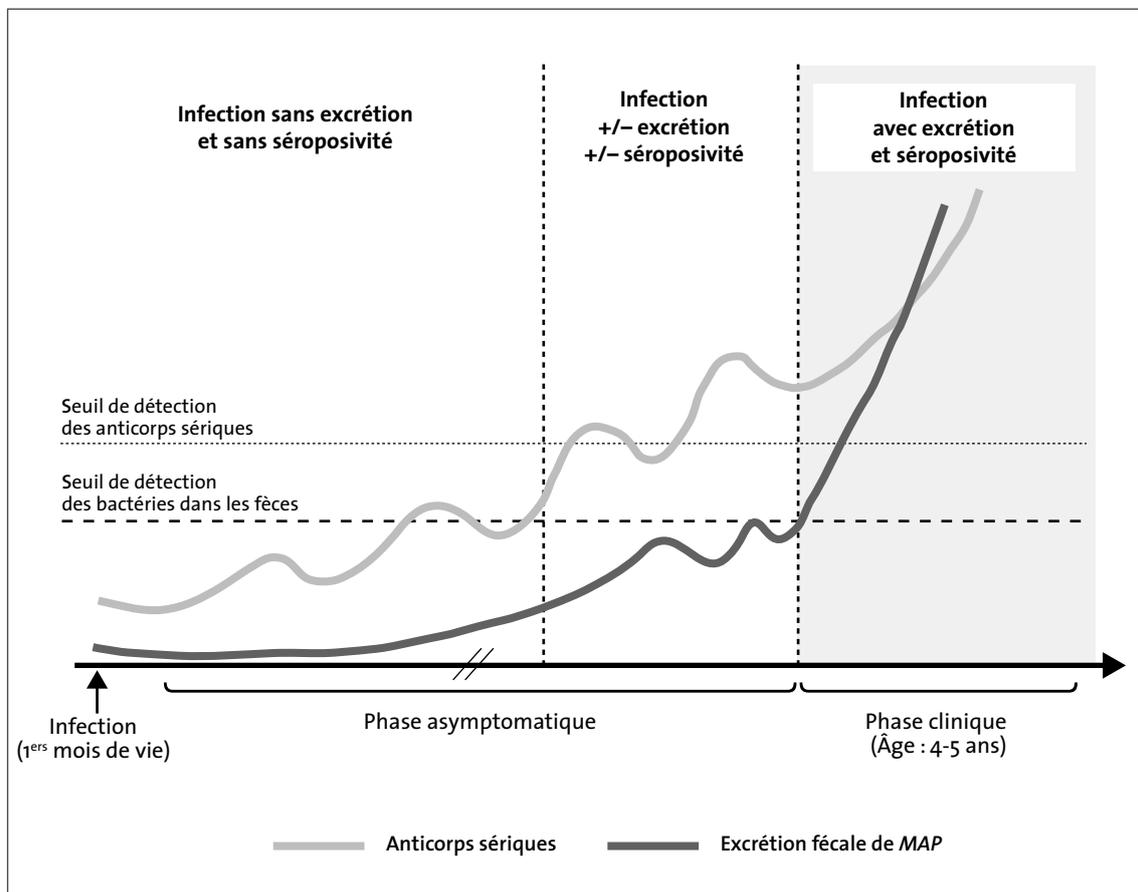
Dès lors, la seule technique sérologique disponible en routine aujourd'hui en France est le test ELISA. Plusieurs kits ou prototypes sont disponibles et reposent sur l'utilisation d'antigènes divers (fractions protoplasmiques,

protéine recombinante, LAM⁽ⁱ⁾, etc.). Une étape de pré-adsorption des sérums à analyser en présence d'une suspension de *M. phlei* est le plus souvent mise en œuvre et permet d'éliminer la plupart des anticorps non spécifiques dirigés contre d'autres mycobactéries et d'autres bactéries proches au plan phylogénétique, telle *Nocardia asteroides*. Cette étape préalable a permis d'améliorer la spécificité de ces tests, estimée à 97-99 %. La sensibilité de ces tests est directement liée au stade de la maladie. Par exemple, pour des animaux fortement excréteurs avec ou sans signes cliniques et pour des animaux faiblement excréteurs, la sensibilité de ces tests est estimée respectivement à 87, 75 et 15 %. Certains animaux en phase clinique peuvent toutefois être reconnus négatifs du fait de la non-production d'anticorps à la suite de l'état d'épuisement général de l'organisme.

Les performances de l'ELISA sont toujours évaluées en comparaison avec la culture fécale. Les données sur la cinétique de la réponse immunitaire humorale non protectrice mise en évidence par ELISA sont encore parcellaires, voire contradictoires (antériorité ou postériorité d'apparition des anticorps par rapport à l'excrétion). De ce fait, les données disponibles concernant les performances de l'ELISA sont relatives à l'excrétion décelable de MAP et non à l'infection proprement dite. Les anticorps n'étant détectés au plus tôt que 10 à 17 mois après l'infection, il n'est pas conseillé de réaliser cette analyse sur des animaux âgés de 15 à 18 mois.

Des essais ont été effectués sur le lait (individuel ou de mélange), mais les résultats ne sont pas encore pleinement satisfaisants (cf. figure 5).

Figure 5 : Évolution de l'excrétion et de la sérologie au cours d'une infection paratuberculeuse



(i) Lipoarabinomannane.

1.5.4. Résumé des principales techniques de diagnostic de la paratuberculose et de leurs caractéristiques

Les caractéristiques des principales techniques de diagnostic de la paratuberculose sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques des principales techniques de diagnostic de la paratuberculose

	Culture	PCR	Ziehl	IDC	ELISA
Dépistage des animaux infectés non excréteurs (stade précoce)	Non	Non	Non	++/+++	+/-
Dépistage des animaux infectés excréteurs asymptomatiques	++/+++ (Sensibilité 10 ² germes/g)	++/+++ (Sensibilité ~ culture)	Non (Sensibilité 10 ⁶ germes/g)	+ / ++	++/+++
Suspicion clinique	Oui	Oui	Oui	Non (Risque d'anergie)	Oui (Possibilité d'anergie)
Spécificité	+++	+++	+ / ++ si amas	+ / - Groupe avium	+++
Influence de la vaccination	Oui Potentielle Réduction du niveau d'excrétion	Oui Potentielle Réduction du niveau d'excrétion	Oui Potentielle Réduction du niveau d'excrétion	Oui (Réaction croisée)	Oui (Réaction croisée)
Coût moyen en France	+++	+++	++	+++*	+
Temps de réalisation	8-12 semaines	48 h	24 h	72 h	48 h
Possibilité de réalisation sur mélange	Emploi parfois en certification Pas en assainissement	Aucune donnée disponible	Non	Sans objet	Aucune donnée disponible
Standardisation de la méthode ou des réactifs en France	Oui (méthode) Norme NF U47-103	Non	Non	Non	Non
Contextes habituels d'utilisation	Dépistage	Dépistage Diagnostic pour confirmation de culture ou Ziehl non concluant	Diagnostic en association avec test indirect	Introduction de bovins de moins d'un an (rare)	Dépistage/ diagnostic en association avec test direct
Emploi dans le cadre de la certification	Oui	Oui	Non	Non	Oui

* Problème de disponibilité des tuberculines.

1.5.5. Conclusion sur les limites des tests de diagnostic

Les outils actuellement disponibles pour le dépistage et le diagnostic de la paratuberculose sont souvent peu sensibles et certains sont parfois peu spécifiques.

Les problèmes de spécificité rencontrés ont majoritairement pour origine des réactions croisées associées aux infections sub-cliniques par d'autres mycobactéries, en particulier celles appartenant au complexe *M. avium/intracellulare* (MAC), présentes dans l'environnement et que l'on peut rencontrer chez les espèces sensibles à la paratuberculose. Les mycobactéries du complexe MAC, ainsi que les mycobactéries saprophytes telles que *Mycobacterium phlei*, partagent également des épitopes avec MAP. À ce titre, des réactions croisées peuvent se produire chez des animaux sensibilisés par des mycobactéries autres que MAP.

Le manque de sensibilité de ces méthodes indirectes peut s'expliquer, quant à lui, par les interactions, complexes et encore mal connues, entre l'agent infectieux et le système immunitaire. Dans les premiers stades de l'infection, la réponse à médiation cellulaire est dominante, puis elle décline en même temps que la maladie progresse, pour généralement s'annuler dans la phase terminale. À l'inverse, la réponse humorale est faible ou absente dans les stades sub-cliniques de l'infection et se renforce dans les stades avancés de la maladie. Cette caractéristique de la paratuberculose a été confirmée au travers d'infections expérimentales et est désormais bien admise.

1.6. Les actions de lutte mises en place en France et à l'étranger

1.6.1. Les actions de maîtrise : la vaccination

1.6.1.1. Les vaccins

Le premier vaccin contre la paratuberculose fut proposé par Vallée et Rinjard en 1926. Vaccin à germe vivant atténué en suspension huileuse, inoculé par voie sous cutanée, il crée chez l'individu un état réfractaire à une surinfection (prémunition). Ce type de vaccin est encore actuellement très largement employé dans le monde, avec quelques variantes portant essentiellement sur la nature des souches employées et des adjuvants utilisés (cf. tableau 4). Des préparations contenant des bactéries inactivées sont également proposées.

Tous les vaccins sont des préparations brutes de cellules entières, les antigènes responsables de la protection n'étant pas clairement définis. La teneur antigénique de la préparation à partir d'une souche donnée peut varier avec le taux de croissance de la culture et le moment de la récolte. Les mêmes vaccins sont utilisés chez les grands et les petits ruminants, la seule différence portant sur le volume de la suspension injectée.

Tableau 4 : Principaux vaccins utilisés contre la paratuberculose

	Gudair	Weybridge	Mycopar	Néo Parasec
Laboratoire producteur	CZ Vétérinaria SA	Weybridge VLA	Solvay Animal Health	Mérial SA
Pays	Espagne	Royaume-Uni	États-Unis	France
Nature du vaccin	Inactivé	Atténué	Inactivé	Atténué
Souches vaccinales	<i>M. avium paratuberculosis</i> 316F	316 F, 2 e, II	<i>M. avium avium</i> St 18	316 F
Nature de l'adjuvant	Huile minérale	Paraffine liquide Pierre ponce	Huile minérale	Huile minérale
Espèces de destination	Ovins, caprins	Bovins, ovins, caprins, cervidés	Bovins	Bovins, ovins, caprins
Posologie	1 ml	Bovins : 1,5 ml Autres : 0,75 ml	0,5 ml	Bovins : 2 ml Autres : 1 ml
Année de début d'utilisation dans le pays	1994	Avant 1970	1972	Avant 1970 Fabrication arrêtée depuis octobre 2001

1.6.1.2. Efficacité de la vaccination

Un certain nombre de données sont consensuelles :

- il convient de vacciner les jeunes animaux le plus rapidement possible, au mieux au cours de la première semaine ou au plus tard au cours du premier mois de la vie ;
- la vaccination diminue généralement de manière significative la fréquence de l'expression clinique de l'infection, quel que soit le type de vaccin utilisé. Les résultats de quelques études effectuées sur ce sujet sont présentés dans le tableau 5 et confirment globalement les observations faites sur le terrain par les praticiens. Il convient toutefois de souligner que ces travaux portent fréquemment sur des effectifs lourdement infectés, permettant d'objectiver plus aisément l'effet de la vaccination conduite pendant au moins cinq années consécutives et systématiquement sur l'ensemble d'un cheptel infecté (Wilesmith, 1982). Cet effet peut s'avérer très variable selon les exploitations et l'importance de la pression d'infection. De plus, la prophylaxie médicale est souvent associée à des mesures sanitaires, ce qui rend toujours difficile l'évaluation de sa réelle efficacité ;
- la vaccination réduit significativement l'excrétion : elle induit généralement une diminution du nombre d'excréteurs et du niveau de l'excrétion. Les travaux mentionnés dans le tableau 6 indiquent toutefois clairement que l'infection n'est pas totalement maîtrisée et il a été fait état de la présence d'excréteurs massifs chez certains ovins vaccinés à l'aide d'un vaccin inactivé (Reddacliff *et al.*, 2005) ;

Tableau 5 : Résultats d'études concernant l'expression clinique suite à la vaccination contre la paratuberculose

Pays	Modalités de l'étude	Résultats
Grande-Bretagne (Spears, 1959)	Vaccin vivant (Weybridge)/bovins (13 années de suivi des troupeaux)	Réduction de l'incidence de paratuberculose clinique de 2,2 % à 0,3 % observée durant les 7 dernières années
Winconsin, États-Unis (Larsen <i>et al.</i> , 1978)	Vaccin tué (bactéries entières)/bovins	Réduction de l'incidence de paratuberculose clinique de 12,6 % à 1,1 %
Pays - Bas (Wentink <i>et al.</i> , 1994)	Vaccin tué/bovins	Réduction de l'incidence de paratuberculose clinique de 7,8 % à 1,8 %
Pays-Bas (Van Schaik <i>et al.</i> , 1996)	Vaccin tué/bovins	Diminution de 90 % du nombre de cas de paratuberculose clinique
Australie (Reddacliff <i>et al.</i> , 2006)	Vaccin tué/ovins (Élevage extensif)	Réduction de la mortalité pour cause de paratuberculose de 90 %

Tableau 6 : Résultats d'études concernant l'excrétion à la suite de la vaccination contre la paratuberculose

Pays	Modalités de l'étude	Résultats
Winconsin, États-Unis (Larsen <i>et al.</i> , 1978)	Vaccin inactivé/bovin	5,5 % de culture fécale positive chez les animaux vaccinés versus 11,5 % de culture fécale positive chez les non vaccinés
France (Hillion et Argenté, 1987)	Vaccin vivant/bovin (Constat après 16 années d'utilisation)	68,6 % de cheptels présentant encore des animaux avec culture fécale positive
Pays-Bas (Kalis <i>et al.</i> , 1999)	Vaccin inactivé/bovin	4,9 % d'excréteurs en cheptels vaccinés versus 5,9 % chez les non vaccinés
Australie (Reddacliff <i>et al.</i> , 2006)	Vaccin inactivé/ovin	Réduction de 90 % du nombre d'excréteurs chez les vaccinés/non vaccinés et augmentation de l'âge de début d'excrétion (+ 10/12 mois)

- la vaccination renforce l'efficacité des mesures sanitaires mises en place, comme le démontrent les résultats obtenus dans les Côtes-d'Armor (cf. tableau 7) (Argenté *et al.*, 2002);
- la vaccination n'empêche pas l'infection. Néanmoins, elle modifie l'évolution de l'infection vers une forme tuberculoïde et régressive (paucibacillaire). Elle contribue ainsi à une diminution très significative de l'incidence clinique de la maladie. De même, elle réduit significativement l'excrétion individuelle et participe ainsi à la diminution de la pression d'infection dans les troupeaux (Garcia Marin *et al.*, 1999).

Tableau 7: Effet de la vaccination sur les mesures sanitaires contre la paratuberculose

Nombre de cultures positives/animal	Bovins nés avant plan de lutte – Non vaccinés	Bovins nés pendant le plan de lutte	
		Non vaccinés	Vaccinés
1 ^{re} culture fécale	8,4 %	6,5 %	1,2 %
2 ^e culture fécale	5,6 %	5,7 %	1,7 %
3 ^e culture fécale	2,9 %	2,7 %	0,7 %

1.6.1.3. Effets indésirables de la vaccination

Interférences avec le dépistage des animaux infectés

C'est l'un des désavantages de la vaccination le plus souvent mentionné. Sur ce point, les informations disponibles sont assez limitées et apparemment variables selon les vaccins employés, les espèces concernées et les tests utilisés. Du fait de la réduction du niveau d'excrétion, la valeur prédictive négative de la culture fécale se trouve diminuée. Les animaux vaccinés présentent également des réponses positives aux tests sérologiques. Avec les tests immunoenzymatiques qui sont les plus utilisés actuellement, la persistance de la séropositivité imputable à la vaccination chez un bovin est estimée à deux ans lors de l'emploi d'un vaccin vivant (Vialard, 1994; Caldwell et Henderson, 2000) et à environ un an pour un vaccin tué (Lopez Cruz *et al.*, 1999). Chez les ovins (Reddacliff *et al.*, 2005), la majorité des animaux vaccinés à l'aide d'un vaccin inactivé administré avant l'âge de trois mois, présentent une forte réaction sérologique en ELISA qui décroît progressivement pour se négativer en environ 18 mois.

Interférences avec le dépistage de la tuberculose

Les animaux vaccinés peuvent réagir positivement à l'intradermo-tuberculation bovine. Ce constat est valable aussi bien pour les vaccins vivants qu'inactivés. La durée de cette réaction d'hypersensibilité retardée est estimée à deux ans pour le vaccin atténué qui était employé en France (Neoprasec®) dans la mesure où l'injection vaccinale était pratiquée dans le premier mois de la vie (Saint-Marc *et al.*, 1991). L'intensité de la réponse à l'injection intradermique de tuberculine aviaire ou de Johnine est nettement plus importante que pour la tuberculine bovine ce qui explique le recours à l'intradermo-tuberculation comparative (IDC) pour détecter une infection tuberculeuse chez un animal vacciné contre la paratuberculose.

Tolérance au point d'injection

L'inflammation locale générée au site d'injection, en particulier avec les vaccins en adjuvants huileux, évolue fréquemment vers un nodule sous-cutané fibreux persistant; parfois celui-ci s'abcède, notamment chez les petits ruminants (chèvre).

Sécurité pour l'utilisateur

Des lésions importantes ont été également signalées chez l'homme lors d'injections accidentelles

1.6.1.4. Place de la vaccination dans la lutte contre la paratuberculose

La situation mondiale est contrastée: certains pays vaccinent, d'autres interdisent la vaccination. Une des raisons de cette diversité est sans doute que la question de l'intérêt et des indications précises de la vaccination n'est pas simple. Certains pays n'autorisent pas les vaccins vivants craignant une résurgence de la virulence et la diffusion de la souche vaccinale dans l'organisme. Ces risques paraissent cependant très peu probables, même si des bactéries vivantes peuvent être retrouvées au site d'injection plus de six ans après l'administration. En effet, la réaction inflammatoire importante constatée après l'injection du vaccin contribue à enfermer les bactéries dans un nodule fibreux.

Compte tenu du manque de sensibilité des moyens de dépistage disponibles, une politique d'éradication de l'infection par des moyens strictement sanitaires paraît difficile à mener à son terme. Le recours à la vaccination pour réduire les conséquences cliniques et économiques, ainsi que l'excrétion, et par conséquent l'abondance de *MAP* dans l'environnement, apparaît séduisant. La vaccination ne semble cependant pas suffisante à elle seule pour diminuer la prévalence de l'infection. Par ailleurs, son efficacité vis-à-vis de l'incidence des cas cliniques (réduction) tend à démotiver les éleveurs dans le maintien dans le temps des opérations de dépistage et de prévention sanitaire.

L'option vaccinale apparaît plus particulièrement intéressante chez les petits ruminants pour lesquels les éléments de suspicion sont extrêmement frustrés : leur durée de vie ne laisse pas toujours le temps à l'infection de se traduire cliniquement, les éléments de suspicion sont davantage nécropsiques que cliniques, les mesures sanitaires sont difficilement applicables dans de très grands effectifs et les moyens de dépistage beaucoup trop chers par rapport à la valeur des animaux. Le recours à la prophylaxie médicale peut également s'avérer utile en élevage bovin allaitant, notamment dans les troupeaux à forte incidence, dans la mesure où ce type d'élevage ne permet pas la mise en place de certaines mesures sanitaires élémentaires, mais particulièrement efficaces, comme la séparation des jeunes et des adultes.

En résumé, la vaccination est un outil intéressant pour la maîtrise de la paratuberculose, notamment dans les cheptels à forte prévalence, mais ne doit pas être considérée comme la solution unique au problème des élevages touchés par cette affection.

Conduite systématiquement et précocement pendant au moins cinq ans (chez les bovins), la vaccination permet une réelle maîtrise de la maladie sans toutefois assurer l'éradication de *MAP* dans l'élevage.

Ainsi, les animaux vaccinés doivent toujours être considérés comme des sources potentielles de contamination, même si le risque qu'ils représentent est significativement plus limité que celui des animaux de statut inconnu.

En pratique, compte tenu de la diversité des situations épidémiologiques et des pratiques d'élevage en France, la vaccination apparaît comme un outil particulièrement intéressant chez les petits ruminants et utile dans certains troupeaux en élevage bovin allaitant.

1.6.2. Plan de lutte et de certification des cheptels

Compte tenu de la complexité de la physiopathologie de la paratuberculose, il peut exister au sein d'un même troupeau, plusieurs catégories d'animaux qu'il n'est pas toujours aisé de distinguer : les animaux sains (non infectés), les animaux infectés (mais non excréteurs), les animaux infectés excréteurs (le plus souvent de manière intermittente) et les animaux cliniquement atteints.

Pour des raisons pragmatiques, dans la pratique de la lutte contre la paratuberculose au plan d'une collectivité (département ou région) ou d'une filière, trois types de troupeaux sont distingués :

- les troupeaux cliniquement atteints c'est-à-dire des troupeaux dans lesquels des cas cliniques de paratuberculose sont recensés avec une fréquence variable dans le temps ;
- les troupeaux apparemment sains, c'est-à-dire des troupeaux dans lequel l'infection n'a pas été mise en évidence compte tenu des outils de dépistages utilisés ;
- tous les autres troupeaux se situant entre les deux extrêmes précédemment décrits pour lesquels aucune mesure de lutte organisée n'est proposée aujourd'hui en l'absence d'investigations spécifiques vis-à-vis de la paratuberculose.

Pour l'instant, seuls les deux premiers types de troupeaux (cliniques et sains) font l'objet de plan de lutte collective. Ainsi, les différentes stratégies de lutte collective contre la paratuberculose mises en place, tant en France que dans divers pays étrangers, sont soit de stratégies offensives visant à l'assainissement des élevages présentant des signes cliniques, soit de stratégies défensives visant à protéger les élevages sains, les différentes modalités de certifications entrant dans cette seconde catégorie.

Par ailleurs, il faut signaler que l'essentiel des plans proposés à l'heure actuelle ne concerne que les bovins. Dans ce qui suit, sont décrits essentiellement les plans mis en place en espèce bovine, sauf indication contraire.

1.6.2.1. Plans de lutte organisés contre la paratuberculose clinique

La finalité de ces plans de lutte est la disparition des signes cliniques de paratuberculose et des coûts afférents, ainsi que la réduction de la pression d'infection. Les objectifs de l'organisation collective de ces plans de lutte sont essentiellement dédiés à la définition d'un cadre technique solide, l'accompagnement structuré des éleveurs tout au long de la durée des plans et éventuellement la mutualisation des coûts.

Mis en œuvre depuis longtemps en France ou à l'étranger, les plans de lutte contre la paratuberculose clinique reposent sur la mise en œuvre simultanée de plusieurs des actions suivantes :

- l'identification et la correction des facteurs de risque de contamination au sein de l'élevage ;
- le dépistage et l'élimination des individus infectés excréteurs ;
- la vaccination des jeunes animaux.

L'identification des facteurs de risque au cours d'un audit de l'élevage est une partie essentielle des plans de lutte. Elle peut être facilitée par l'utilisation d'une grille d'évaluation qui permet, d'une part, une démarche systématisée sans *a priori* et, d'autre part, l'identification des pratiques d'élevage qui doivent être prioritairement modifiées. Les principaux secteurs d'investigation concernent :

- les facteurs favorisant la transmission de l'infection au jeune veau (naissance et élevage du veau jusqu'au sevrage). Les mesures mises en place visent à empêcher la contamination par les matières fécales des adultes, de l'alimentation et de l'abreuvement des jeunes générations ;
- les facteurs favorisant la transmission de l'infection aux autres animaux par la maîtrise de la pression infectieuse sur l'exploitation (gestion des effluents), où la gestion du fumier dans les bâtiments et les pâtures représente certainement le point le plus important de la démarche. Dans ce cadre, l'évaluation de la charge environnementale en MAP est une approche récente proposée pour apprécier l'efficacité des mesures mises en place dans les cheptels infectés (Berghaus *et al.*, 2006). Elle repose sur la réalisation de culture sur des mélanges d'échantillons prélevés dans les lieux de circulation des animaux, dans les zones d'alimentation et dans les parcs d'attente des salles de traite. Six à huit mélanges environnementaux, eux-mêmes constitués de quatre à six échantillons en provenance des zones précédemment définies sont utilisés pour cette démarche dont la fiabilité n'est pas pour l'instant connue ;
- les facteurs favorisant la transformation de l'infection en maladie (équilibre nutritionnel, maîtrise du parasitisme).

Tous les plans de lutte appliqués dans le monde intègrent cette démarche d'identification et de maîtrise des facteurs de risques. Dans certains cas (États-Unis d'Amérique, Australie), cette première étape est obligatoire avant de procéder à des analyses sur les animaux du troupeau.

L'objectif du dépistage des animaux infectés ne présentant pas de signe clinique mais considérés comme excréteurs potentiels est de limiter la pression infectieuse dans l'exploitation. Le dépistage de ces animaux est réalisé par coproculture, par PCR sur fèces ou par ELISA, généralement à partir de l'âge de deux ans. En raison des valeurs prédictives peu élevées des tests employés sur cette catégorie d'individus, l'efficacité du dépistage repose sur son renouvellement régulier à intervalle de six mois ou deux ans. Les individus à réponse positive sont le plus souvent éliminés, ainsi que leur descendant direct. La technique du dépistage-abattage est très largement appliquée dans le monde. Cependant, dans certains cas (Danemark), les animaux reconnus infectés peuvent être conservés dans l'exploitation, sous la condition que la maîtrise des facteurs de risque soit correctement mise en œuvre dans ces troupeaux.

Les animaux cliniquement atteints, représentant les sources les plus importantes de matières virulentes, sont réformés en priorité et le plus rapidement possible.

La prophylaxie médicale (vaccination des jeunes animaux dans les premiers jours de la vie) est parfois préconisée dans les plans de lutte contre la paratuberculose quand des vaccins sont disponibles, notamment dans les élevages où il est difficile de séparer physiquement le jeune de sa mère (élevage bovin allaitant, élevage ovin). Dans certains pays, cette vaccination des jeunes animaux a été utilisée comme complément aux autres mesures, voire à la place de la détection des animaux infectés ou même comme unique outil de lutte. Une réduction importante du nombre de cas cliniques dans les élevages concernés a été alors observée.

Néanmoins, en provoquant des interférences avec les tests de dépistage (marquage sérologique), le recours à la vaccination peut présenter un handicap à l'obtention d'une certification ultérieure ou gêner la détection des animaux infectés. Enfin, les interférences avec le dépistage de la tuberculose ont, également, limité l'utilisation de la vaccination. Par ailleurs, certains vaccins ne sont plus disponibles dans certains pays (cas de la France depuis 2001).

L'absence de vaccin ne semble pas constituer une difficulté majeure pour les élevages laitiers. En effet, la mise en œuvre des mesures sanitaires permettant de réduire significativement la pression d'infection est tout à fait compatible avec la conduite de ce type d'élevage. En revanche, en système allaitant, la situation est différente du fait des contacts étroits et incontournables entre les jeunes et les adultes. Pour des raisons économiques évidentes, il est en outre difficilement envisageable de recourir à un dépistage systématique en élevage ovin viande ou de préconiser l'abattage de tous les bovins infectés dans un troupeau allaitant à forte prévalence. Dans ces deux dernières situations, il serait particulièrement intéressant de pouvoir recourir à la vaccination.

Les plans d'assainissement durent en moyenne cinq à huit ans et sont considérés comme achevés après obtention d'au moins deux tests de troupeau négatifs à un an d'intervalle.

En France, les premiers plans de lutte contre la paratuberculose clinique ont été mis en place sur des élevages laitiers en 1975 en Bretagne (Côtes-d'Armor) puis dans d'autres départements, avec des modalités d'application assez variables. Dans un souci d'harmonisation, un programme national pour la maîtrise de la paratuberculose clinique chez les bovins a été proposé par la Fédération nationale des groupements de défense sanitaire du bétail (FNGDS) et la Société nationale des groupements techniques vétérinaires (SNGTV) en 2000. L'adhésion au plan de maîtrise est toujours volontaire. Les maîtres d'œuvre sont les Groupements de défense sanitaire (GDS) départementaux qui assurent la gestion en collaboration avec le vétérinaire de l'exploitation et apportent un soutien financier à l'éleveur sous la forme de prise en charge partielle des frais d'analyses, d'aides aux aménagements des locaux et à la réforme des animaux infectés. Les résultats peuvent être considérés comme globalement satisfaisants en élevage laitier, le taux d'échecs pouvant cependant atteindre 5 à 6 % (Argenté *et al.*, 2002). Il s'agit alors principalement de cheptels à forte incidence et de cheptels allaitants.

Dans un certain nombre de pays, des démarches similaires sont proposées aux éleveurs (États-Unis d'Amérique, Australie, Écosse, Israël, Italie, République tchèque, Pays-Bas). Il n'y a pas de différence fondamentale dans la conception générale de la lutte, l'accent étant toujours mis sur les mesures de conduite d'élevage et les principales techniques employées pour le dépistage des infectés restant la culture fécale ou l'ELISA, avec un recours possible à la PCR. L'originalité de certains programmes réside dans les efforts de formation des éleveurs et des vétérinaires praticiens (exemple du Voluntary Bovine Johne's Disease Control Program – VBJDCP – des États-Unis d'Amérique).

Dans l'état actuel, il est difficile d'apprécier l'apport spécifique de ces différentes options, qui ne sont pas toutes transposables au mode d'élevage européen. Ces programmes se différencient également :

- par l'existence d'un classement des cheptels infectés selon leur niveau de prévalence apparente (États-Unis d'Amérique), les éleveurs impliqués dans un processus d'assainissement voyant ainsi leurs efforts concrétisés par une reconnaissance officielle de la progression de l'état sanitaire de leur cheptel ;
- par la valorisation d'une démarche d'amélioration de la conduite du troupeau visant à une gestion du risque « paratuberculose » (État de New York) ;
- par l'existence dans certains pays (Australie) de zones définies par des niveaux de probabilité d'infection. Dans chacune de ces zones sont fixées les règles de circulation des animaux, l'autorisation ou non de la vaccination ainsi que les actions de détection des cheptels infectés.

1.6.2.2. Plans de certification

L'objectif de ces programmes est de sécuriser les échanges d'animaux de manière à protéger les élevages sains. Il s'agit dans ce cas d'un objectif collectif de maintien *a minima*, voire d'amélioration de la situation sanitaire collective au plan départemental ou régional, ou dans une filière de production ou de sélection.

Le nombre de pays dans lesquels la paratuberculose est à déclaration obligatoire est très faible (Suisse, Australie, Irlande, Suède) et elle y est probablement très largement sous déclarée.

Dans un certain nombre de pays, les plans de lutte contre la paratuberculose clinique (« control programs ») sont complétés par des programmes de certification (« certification programs »). Différentes modalités sont mises en œuvre mais quelques principes généraux peuvent être relevés :

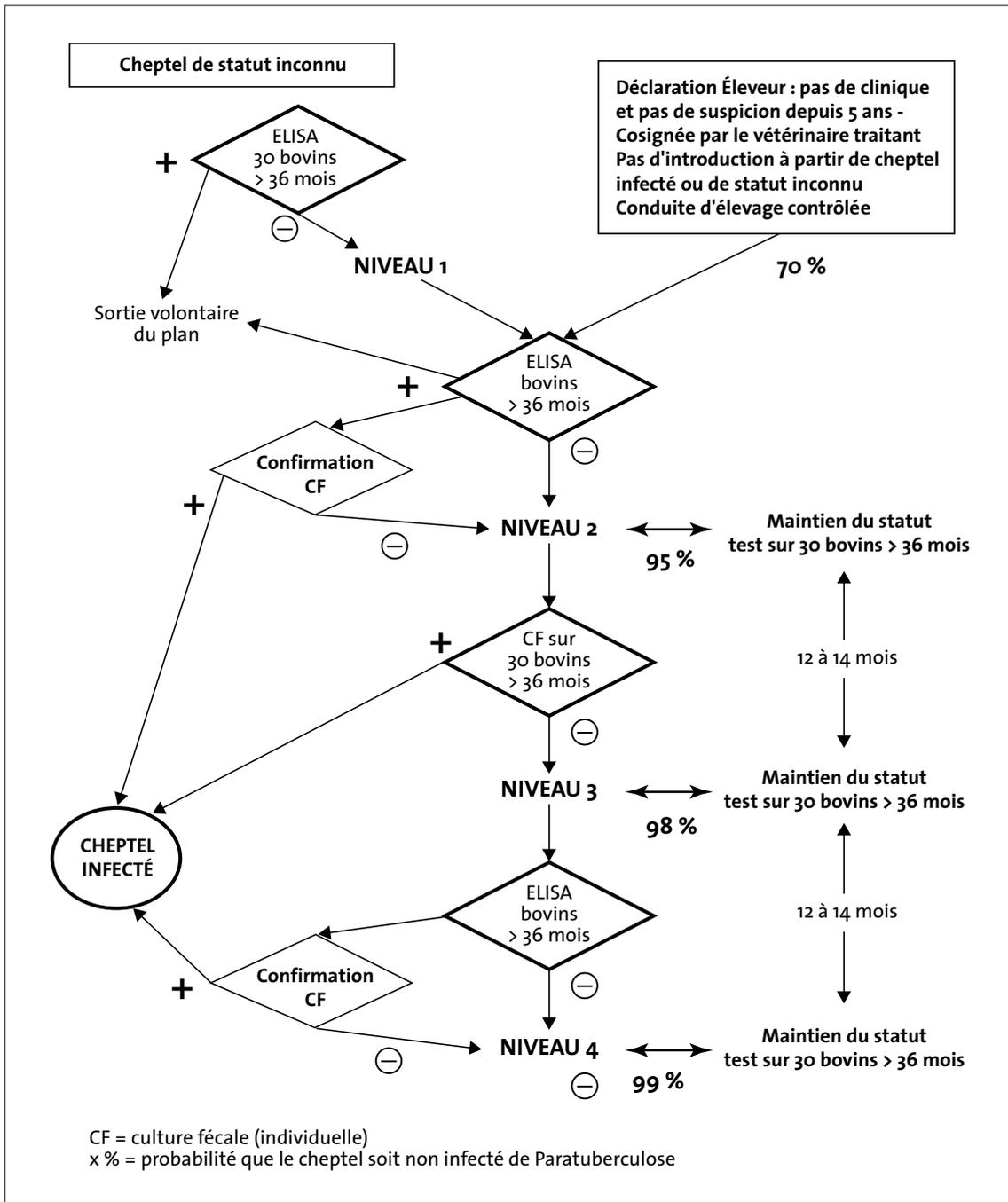
- un objectif principal de sécurisation des échanges entre cheptels ;
- une non-utilisation du terme de « cheptel indemne » en raison de la biologie particulière du germe et des limites des tests de dépistage (sensibilité insuffisante) ;
- des niveaux de garantie progressifs, correspondant à une probabilité croissante que le cheptel fournissant des réponses négatives ne soit pas infecté de paratuberculose ;
- une adhésion généralement fondée sur le principe du volontariat ;

- une gestion assurée par des organismes privés agricoles ou par des clubs de race (exemple de la Welsh Black Cattle Society en Grande-Bretagne) avec souvent le soutien d'instances gouvernementales et/ou de structures universitaires ;
- des programmes surtout destinés aux cheptels laitiers ;
- des possibilités de contestation des résultats positifs (procédures de contre-expertise) tenant compte des défauts de spécificité des techniques (notamment la sérologie).

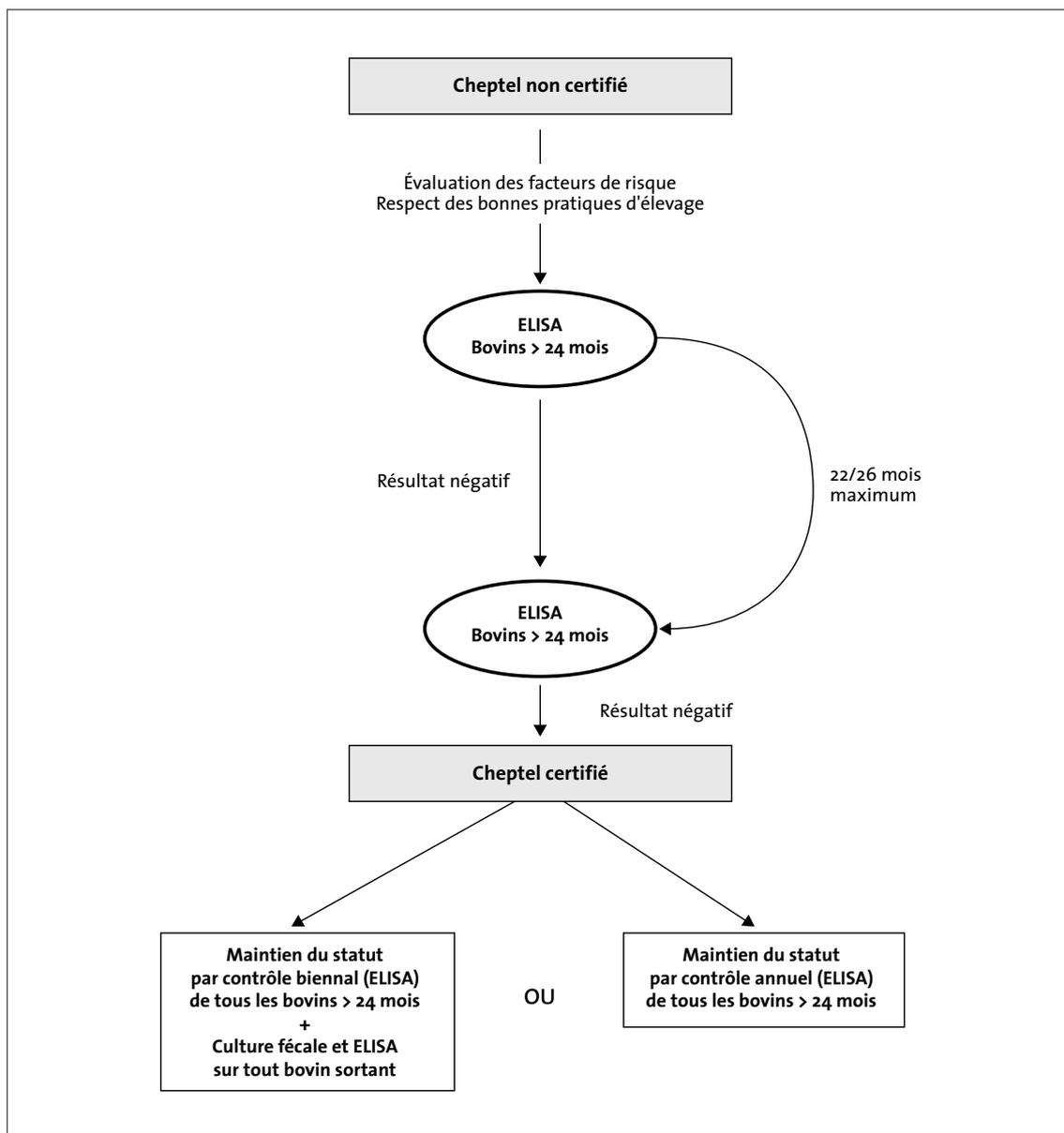
Les différences se situent sur le plan :

- des tests utilisés pour définir le statut ainsi que du nombre et de l'âge des animaux testés : ELISA, culture fécale individuelle ou sur mélanges, alternance de sérologie/culture – totalité du cheptel ou sondage (30 bovins généralement) – 24 ou 36 mois ;
- de l'existence et du nombre de niveaux de garanties *cf.* modèle États-Unis d'Amérique *versus* modèle australien – *cf.* figures 6 et 7 (Vialard, 2002b) ;
- de la possibilité ou non de se maintenir à un niveau donné (coût plus modéré par rapport à la progression), en précisant éventuellement l'année d'obtention de ce niveau ;
- de l'obligation d'un agrément pour les kits de diagnostic, les laboratoires d'analyse et les vétérinaires (exemple : Online Johne's Disease Veterinary Certification Program des États-Unis d'Amérique) ;
- de la réalisation plus ou moins obligatoire d'une analyse de la conduite du troupeau avec maîtrise des facteurs de contamination et de propagation de *MAP*. Le respect des bonnes pratiques d'élevage peut constituer à lui seul un niveau de certification (niveau 1 du plan de certification de l'État de New York) ;
- de l'affichage d'un objectif de santé publique – protection du consommateur – (exemple : Pays-Bas) ;
- de l'existence de statut et de progression de statut de cheptel infecté (équivalent à notre notion de cheptel en cours d'acquisition de statut – exemple de l'Australie, *cf.* figure 7).

Figure 6 : Programme de certification avec garanties à niveaux progressifs
Exemple des États-Unis d'Amérique



**Figure 7: Programme de certification des cheptels bovins vis-à-vis de la paratuberculose
Exemple de l'Australie**



En France, sous l'égide de l'Association pour la certification de la santé animale en élevage (ACERSA), une réflexion a été menée de 2001 à 2003 sur l'opportunité de la mise en place d'une certification. Elle a abouti à la proposition d'un référentiel technique d'une garantie de cheptel délivrée par les GDS (référentiel consultable sur le site internet de l'ACERSA) sur la base de résultats d'analyses individuelles (ELISA, coproculture ou PCR au choix de l'éleveur).

La garantie est obtenue après deux séries de contrôles négatifs dits « d'acquisition », espacés de 9 à 30 mois et effectués sur tous les animaux de plus de 24 mois, mâles et femelles. Le maintien de la garantie est conditionné à la réalisation d'un premier contrôle dit « d'entretien » réalisé un an après le deuxième contrôle d'acquisition sur les animaux de plus de deux ans (mâles et femelles). Les contrôles d'entretien suivants sont espacés de deux ans et ne concernent que les individus de deux à cinq ans. Les animaux vaccinés sont exclus de la garantie du fait de l'impact de la prophylaxie médicale sur la sensibilité des tests de dépistage (cf. supra). Les animaux introduits doivent être soumis à deux tests de dépistage espacés de 9 à 15 mois dès lors qu'ils sont âgés de 18 mois minimum. Ils ne bénéficient de la garantie du cheptel introducteur qu'à l'issue de ces deux tests négatifs. Les animaux provenant des cheptels sous garantie dérogent à ces mesures.

La France se distingue dans sa démarche par l'absence :

- de prise en compte de la maîtrise des facteurs de risque. La certification est fondée uniquement sur des résultats d'analyses et ne tient pas compte de la maîtrise des facteurs de risque en élevage ;
- d'agrément des tests, voire des laboratoires d'analyses (pas de laboratoire de référence officiel désigné actuellement).

D'une manière générale, les freins au développement de programmes de certification des cheptels en matière de paratuberculose sont nombreux. Ils sont dus :

- au niveau moyen, voire médiocre, des valeurs prédictives des tests employés, qui résultent principalement de la complexité de la pathogénie de cette affection ;
- à la physiopathologie de l'infection paratuberculeuse, qui peut conduire à la persistance de *MAP* sans conséquence, pendant des années, dans certains élevages. Dans une étude récemment menée aux Pays-Bas (Kalis *et al.*, 2004) sur 90 cheptels laitiers n'ayant présenté aucun cas clinique depuis cinq ans et fermés (pas d'achat depuis trois ans) et souhaitant obtenir une certification, 61 % se sont révélés en réalité infectés ;
- à l'absence de proposition concrète financièrement acceptable pour les éleveurs de plan de lutte contre la simple infection qui pourrait être révélée lors de la démarche de certification dans toute une série d'élevages n'ayant jamais eu à subir de pertes cliniques liées à la paratuberculose. Dans les cheptels de l'étude néerlandaise citée ci-dessus, la découverte fréquente d'un très faible nombre d'animaux positifs (1 ou 2 sur des troupeaux de 70/80 bovins) a rapidement découragé certains éleveurs à entreprendre une telle démarche de certification ;
- à la perception de cette démarche comme une entrave à une certaine liberté commerciale ;
- au coût non négligeable de l'acquisition et du maintien d'une certification qui n'est pas toujours répercuté ou répercutable sur le prix de vente des animaux ou/et des produits d'origine animale. L'existence d'une garantie paratuberculose constitue le plus souvent un pré-requis pour l'accessibilité à certains marchés (exportation, filière de sélection), mais n'a pas intrinsèquement de valeur ajoutée.

1.6.3. Évaluation économique et technique de ces actions

1.6.3.1. Impact économique de la paratuberculose

La paratuberculose est responsable de pertes directes et indirectes plus ou moins quantifiables. Les données économiques disponibles concernent essentiellement les bovins laitiers et, dans une moindre mesure, les petits ruminants (cf. annexe 2). Il est essentiel de souligner que les chiffres publiés traduisent des différences importantes, voire des contradictions, qui tiennent, soit à la méthodologie retenue (études anciennes), soit aux limites des tests de dépistage. S'il est relativement aisé de quantifier les pertes dues à une paratuberculose clinique, la situation se complique singulièrement lorsque l'on s'intéresse à la phase préclinique, en raison de la longueur de cette période et de la valeur limitée des tests (fixation du complément, ELISA ou PCR) visant à déterminer le statut des animaux asymptomatiques. Les résultats restent discutables : les auteurs comparent les performances des bovins infectés (positifs aux tests) avec les animaux « sains » (négatifs aux tests) d'un même troupeau ou d'un troupeau considéré comme indemne.

Dans le premier cas, on peut raisonnablement s'interroger sur la réalité de la non-infection des bovins « sains ». Dans le deuxième cas, il n'est pas évident que les troupeaux soient équivalents dans le domaine de la génétique et de la conduite d'élevage. Néanmoins, malgré ces incertitudes, certains consensus peuvent être relevés et les chiffres obtenus retenus pour une évaluation de l'impact économique de la paratuberculose.

La mortalité est généralement limitée en élevage bovin, les animaux étant généralement rapidement réformés après constatation d'une diarrhée chronique cachectisante et rebelle aux thérapeutiques usuelles. En revanche, chez les petits ruminants, des taux de mortalité atteignant jusqu'à 10 % (caprins), voire 14 % (ovins), sont mentionnés. Ces chiffres sont cependant constatés dans des cheptels de grande taille (suivi individuel difficile) et fortement infectés, ainsi que dans certains types de production qui conduisent à garder des animaux plus longtemps (production de laine par exemple).

L'impact sur la production laitière a fait l'objet de nombreuses études. La diminution de la production est comprise entre 12 et 20 % pour les animaux en phase clinique et entre 5 % et 15 % (moyenne 6-8 %) pour les animaux en phase sub-clinique (animaux asymptomatiques mais donnant une réponse positive à un test de dépistage). La plupart des auteurs s'accordent sur une influence nulle à négligeable sur le taux cellulaire et sur la qualité du lait (taux de matières grasses et taux protéique) ainsi que sur sa transformation. Ces chiffres peuvent être extrapolés aux petits ruminants (sans étude précise sur ce point), en tenant compte d'une valorisation supérieure du litre de lait de la chèvre ou de la brebis par rapport à celui de la vache. Une prédisposition

aux mammites a été évoquée en raison de l'hyporéactivité aux mitogènes des lymphocytes du lait chez les animaux infectés par *MAP*. Les différentes publications sur ce point ne permettent pas de conclure à une nette augmentation des taux de mammites en cheptel infecté. Les conséquences d'une excrétion lactée de *MAP* et de sa persistance éventuelle de *MAP* après traitement thermique (cf. chapitre III) ne sont pas actuellement quantifiables et dépendront des exigences des consommateurs, distributeurs et industries agroalimentaires dans l'avenir.

Les performances reproductrices (fertilité, intervalle vêlage – vêlage) ne semblent pas significativement altérées (Merkal *et al.*, 1975; Tiwari *et al.*, 2005); (Abbas *et al.*, 1983).

Sur le plan de la **production de viande**, les informations sont très limitées. La réduction de la croissance ou du poids de la carcasse est cependant prévisible, compte tenu de la pathogénie de la maladie. Les chiffres chez les bovins font mention d'une perte de la valeur de la carcasse de 20 % (Benedictus *et al.*, 1987) ou d'une différence de 60 kilogrammes à l'abattoir entre les vaches CF positives/CF négatives (Whitlock *et al.*, 1985). La production de viande d'agneau ou de chevreau n'est pas affectée du fait de la longue incubation de la maladie. En revanche, chez l'adulte, des pertes de poids de trois à six kilogrammes peuvent être observées en moins de trois mois. Les Espagnols, ainsi que les Australiens, estiment de 60 à 80 euros les conséquences d'un mauvais indice de conversion alimentaire chez les ovins de race à viande.

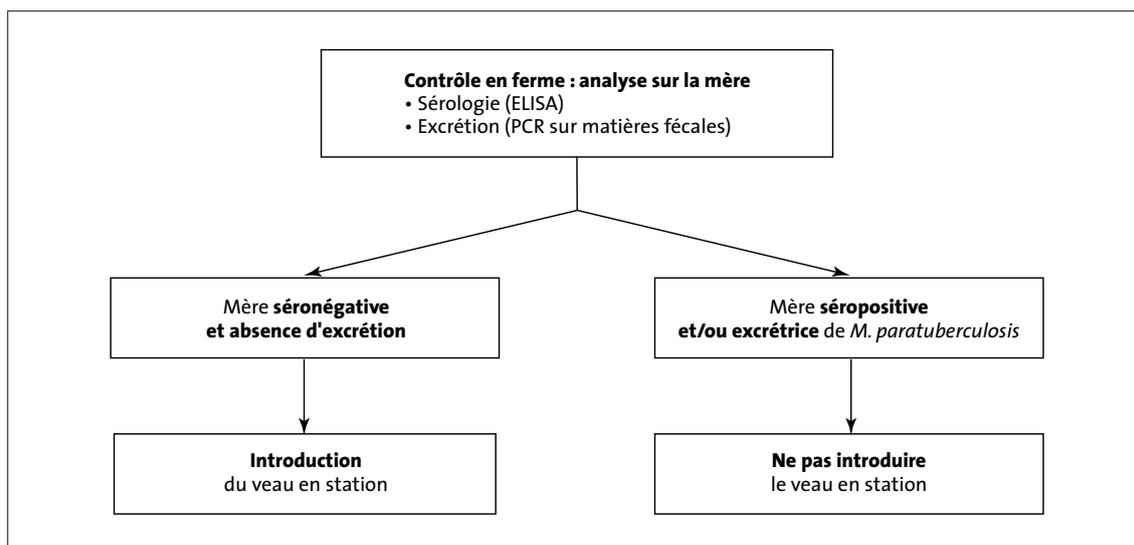
La paratuberculose est également responsable de pertes indirectes sous la forme d'**inaccessibilité à certains circuits commerciaux**. Cela concerne principalement la filière « sélection ». Les investissements sont en effet très élevés, rendant intolérable financièrement une réforme précoce. Il convient également de prendre en compte l'impact sur l'image de marque de la race à l'étranger et les conséquences lorsqu'il s'agit de conservation du patrimoine génétique (races à très faible effectif). L'appartenance à un cheptel présentant certaines garanties (généralement plusieurs tests successifs de troupeau à réponse négative) est ainsi demandée à l'introduction en centre de sélection (race limousine par exemple) ou pour l'exportation dans certains pays (en Suède par exemple). Compte tenu de la mise en place de démarches d'assainissement/certification dans de nombreux pays, ces exigences n'iront qu'en s'amplifiant, aussi bien en terme d'échanges nationaux qu'internationaux. En France, les veaux introduits en station de testage sont soumis à un contrôle de leur statut vis-à-vis de la paratuberculose (cf. figure 8 et encadré).

L'état sanitaire vis-à-vis de la paratuberculose est une préoccupation importante dans les centres d'insémination artificielle (CIA) français pour plusieurs raisons :

- la paratuberculose clinique reste la première maladie infectieuse à expression clinique dans les CIA en France. Elle provoque l'abattage prématuré d'animaux à haut potentiel génétique et induit des pertes économiques significatives ;
- sa présence dans un CIA peut altérer le statut sanitaire du centre, notamment en cas de séroconversion d'autres taureaux, ce qui peut nuire aux échanges communautaires et aux exportations, compte tenu des exigences des importateurs vis-à-vis du statut sanitaire, non seulement du taureau donneur mais aussi de celui des autres animaux du CIA. Il existe un risque de confusion avec la tuberculose (MARC), au moins avant l'abattage, ce qui peut entraîner des contraintes sanitaires avant la certitude diagnostique (APMS, tests, etc.) ;
- l'impact économique global est très significatif puisqu'il a pu être estimé en 2002 pour l'ensemble des CIA français à plus de dix millions d'euros, compte tenu :
 - d'une part, de l'élimination de 90 animaux en cours de testage, d'une dizaine de taureaux indexés et du coût du testage individuel (en tout cinq millions d'euros),
 - d'autre part, du manque à gagner sur le nombre de doses non vendues (cinq millions d'euros) bien que la transmission par le sperme ne soit pas avérée.

Compte tenu de la forte probabilité que les taureaux à tester issus d'élevages infectés soient éliminés avant toute utilisation, un protocole de contrôle des veaux à l'introduction en CIA a été mis en œuvre. Il repose sur l'examen du statut sanitaire en ferme de la mère (ELISA et PCR sur matières fécales). Seuls les veaux issus d'une mère séronégative et non excrétrice peuvent être introduits en station. Il est aussi conseillé de tenir compte du statut sanitaire de l'élevage d'origine (absence de signes cliniques, qualification, etc.), comme cela est déjà fait par certains centres.

Figure 8 : Exemple français de plan de contrôle des veaux à l'introduction en station de testage



Source: B. Guérin.

La liste des pertes occasionnées par la paratuberculose ne serait pas complète sans y inclure **le coût des traitements infructueux, l'augmentation du taux de réforme et l'élimination d'animaux qui n'ont pas encore exprimé tout leur potentiel génétique.**

L'estimation des pertes économiques globales consécutives à l'infection paratuberculeuse se situe entre 100 et 200 € selon les auteurs pour un bovin laitier en phase préclinique. On considère qu'il n'y a pas de conséquence pour les bovins allaitants à ce stade de la maladie. Pour un animal présentant des signes cliniques, la perte de production est estimée aux alentours de 2 000 €, qu'il s'agisse d'un bovin laitier ou d'un bovin allaitant, le chiffre correspondant à la perte de production laitière étant équivalent à la différence de valeur bouchère (ACERSA, 2002).

1.6.3.2. Rentabilité des différentes stratégies mises en place

La rentabilité, étroitement liée à l'efficacité des stratégies de lutte, est un élément essentiel à considérer, compte tenu de la lourdeur des mesures proposées aux éleveurs. Cette rentabilité dépend également étroitement des objectifs du plan et du coût de la paratuberculose dans les élevages. Pour l'établir, il convient d'identifier les avantages de la lutte et de comparer ces avantages aux coûts et contraintes résultant de la mise en œuvre des plans.

- Pour les plans de lutte contre la paratuberculose clinique, les coûts des programmes sont élevés en termes d'analyses à réaliser pour le diagnostic des animaux suspects et pour l'identification des animaux sans signe clinique, en termes de réforme des animaux excréteurs et en termes de contraintes sanitaires pour les éleveurs (par exemple: frais occasionnés par les travaux d'aménagement des locaux et des pâtures). Ces coûts peuvent toutefois compenser les pertes importantes représentées par la morbidité, les coûts de traitements et les baisses de production liées à la paratuberculose clinique. Par ailleurs, il existe un effet indirect positif des mesures hygiéniques sur l'état sanitaire général du cheptel (réduction des affections de type entérites, parasitisme, mammites). Globalement, la mise en place de ces plans de lutte s'avère rentable pour les éleveurs.
- Pour les programmes de certification, la rentabilité est plus difficile à établir et dépend du type d'élevage. Une approche coût/bénéfice réalisée pour des élevages de production laitiers et allaitants (Dufour *et al.*, 2004) a montré que la rentabilité de l'acquisition d'une certification était extrêmement dépendante du choix des tests utilisés. Par ailleurs, il est clair que l'acquisition et l'entretien d'une certification sont d'autant plus faciles à rentabiliser par un élevage que celui-ci est vendeur d'un nombre important d'animaux destinés à la reproduction. Les sélectionneurs sont donc particulièrement intéressés par ces démarches alors que les élevages de production, surtout s'ils vendent peu d'animaux pour l'élevage, auront plus de mal à les rentabiliser.
- *A fortiori*, la rentabilité des plans d'assainissement des élevages infectés sans signe clinique semble peu optimale dans la mesure où le coût des analyses et des réformes ne serait pas compensé par une diminution des pertes. L'absence de ce type de stratégie pour ces élevages tend à confirmer cette impression.

1.6.3.3. Efficacité des stratégies mises en place

Efficacité et rentabilité de la lutte collective contre la paratuberculose sont étroitement liées. Cependant, on peut définir l'efficacité comme la capacité de ces démarches à remplir leurs objectifs techniques indépendamment des aspects économiques.

- Pour les plans visant à la suppression de la paratuberculose clinique dans les élevages et avec le recul actuel, il est possible de qualifier l'efficacité de ce type de stratégie comme bonne en élevage de bovins laitiers. La disparition des signes cliniques intervient assez rapidement (en moyenne en deux à trois ans) après le démarrage du plan, principalement grâce à la détection et à l'élimination des excréteurs asymptomatiques, potentiels futurs cas cliniques. L'impact des autres mesures visant à réduire la pression d'infection est plus difficile à évaluer, puisqu'il ne pourra être réellement apprécié que par le devenir des jeunes générations. Sans viser l'éradication, ce qui serait difficile à obtenir et à vérifier compte tenu des particularités du germe, du déroulement de l'infection et de l'efficacité des méthodes de dépistage, il est toutefois possible de stabiliser la situation de la très grande majorité des élevages infectés à un niveau sanitaire et économique acceptable. L'efficacité de ces actions est plus nuancée en élevage allaitant (en particulier en élevage ovin) en raison des difficultés à appliquer une séparation rigoureuse des animaux reconnus infectés. Dans un bilan présenté en 2002 par le GDS de Côtes-d'Armor, il apparaît que plus de la moitié des cas de rechute sont observés dans les trois ans suivant la fin du plan et que 44 % et 22 % de ces rechutes concernent respectivement des cheptels bovins à forte incidence et des cheptels allaitants. Au total, sur 739 cheptels assainis fin 2000, 5,6 % ont connu une résurgence de la maladie.
- Pour les schémas de certification, les données sont actuellement très limitées, d'une part, parce qu'ils ne concernent qu'un nombre encore assez restreint d'élevages et, d'autre part, parce qu'ils sont de mise en place plus récente. Compte tenu des caractéristiques épidémiologiques et pathogéniques de la paratuberculose, l'identification d'un réel échec de la certification ne pourra être établie qu'après avoir démontré que l'émergence d'une paratuberculose dans un cheptel ne peut être liée qu'à l'introduction d'un animal issu d'un cheptel avec garantie. On imagine sans peine les difficultés d'une telle démonstration. D'autre part, l'efficacité de la démarche de certification est fortement conditionnée par la qualité intrinsèque des outils de laboratoire employés. Les défauts de sensibilité des tests utilisés pour la paratuberculose conditionnent donc de manière non négligeable l'efficacité de la démarche de certification. Plus le nombre de tests réalisés (succession dans le temps) est élevé et meilleure sera la garantie apportée. Les choix proposés dépendent alors étroitement du rapport coût/bénéfice de leur mise en œuvre.
- Il faut également souligner que l'organisation collective de la certification risque de conduire à identifier, et éventuellement « stigmatiser », des élevages simplement infectés (donc non « certifiables ») et ne présentant pas de signe clinique, pour lesquels aucun plan de lutte n'a été évalué aujourd'hui tant au niveau médical qu'économique. De plus, la généralisation d'une telle démarche au niveau national se heurterait aux limites de son financement.

En l'état actuel des moyens de dépistage et de lutte, il ne semble donc pas opportun d'encourager à l'heure actuelle la généralisation de la certification des cheptels.

La mise en place de plans de lutte vis-à-vis de la paratuberculose clinique apparaît pleinement justifiée et l'expérience acquise depuis de nombreuses années, tant en France qu'à l'étranger, apporte de multiples preuves de l'efficacité de cette démarche en élevage laitier, reposant principalement sur des mesures sanitaires.

La vaccination reste un outil complémentaire intéressant mais non indispensable, sauf pour les élevages bovins allaitants et la plupart des élevages ovins et caprins qui sont dans l'impossibilité technique ou économique de mettre en place une prophylaxie exclusivement sanitaire.

Pour les cheptels sans cas clinique, le coût de la certification est tel que seuls les élevages à haut potentiel génétique peuvent la valoriser économiquement. Une généralisation de la certification risquerait, en outre, de conduire à une situation délicate par la mise en évidence d'une infection dans des troupeaux sans cas clinique pour lesquels aucune action collective économiquement acceptable n'est disponible aujourd'hui.

2.1. Nosologie des maladies inflammatoires chroniques intestinales

Le diagnostic initial chez l'Homme des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) repose sur un faisceau d'arguments cliniques, endoscopiques, radiologiques (pour l'intestin grêle surtout) et histologiques (biopsies endoscopiques et/ou pièces opératoires). L'extrême diversité des situations rend illusoire l'élaboration d'une démarche diagnostique unique et standardisée.

Schématiquement, il existe deux étapes dans le diagnostic d'une MICI :

- a) affirmer la MICI : sur le court et le moyen terme, il s'agit d'éliminer une maladie infectieuse, seule en cause ou associée et à long terme, d'autres maladies chroniques (lymphome, autres maladies inflammatoires) même si le diagnostic différentiel est beaucoup plus rare ;
- b) dans le cadre des colites isolées, différencier la recto-colite hémorragique (RCH) de la maladie de Crohn (MC) colique. Cette distinction peut être facile d'emblée ou au contraire s'avérer impossible pendant des années. Dans de rares cas (< 10 %), le diagnostic de MC peut finalement être porté chez un malade porteur d'une MICI considérée depuis des années comme une RCH typique. Cette distinction a surtout des implications pratiques lorsqu'une chirurgie d'exérèse colique est envisagée.

2.1.1. Diagnostic de la maladie de Crohn

La MC peut atteindre l'ensemble du tube digestif, de la bouche à l'anus. Les régions les plus touchées sont la partie terminale de l'intestin grêle et initiale du côlon droit (formes iléo-coliques droites représentant 40 % des cas environ), l'intestin grêle seul (formes grêliques pures, 30 % environ) et le côlon (formes coliques pures, 30 % environ). Une atteinte ano-périnéale est présente dans 25 à 30 % des cas, le plus souvent associée à une atteinte colique.

Le diagnostic de MC est évoqué dans des situations cliniques variées : diarrhée prolongée, douleurs abdominales inexpliquées associées à un syndrome biologique inflammatoire et/ou une anémie et/ou des signes biologiques de malabsorption et/ou une altération de l'état général et/ou des signes extra digestifs (érythème noueux, douleurs articulaires, manifestations ophtalmologiques) et/ou un retard de croissance et/ou une petite taille sans contexte familial de petite taille et/ou un contexte familial de MICI.

La confirmation diagnostique de MC passe par une endoscopie œsogastroduodénale et une coloscopie (avec si possible iléoscopie rétrograde) avec biopsies étagées, même en territoire apparemment sain, car les granulomes sont souvent présents dans une muqueuse d'apparence macroscopiquement saine.

Les lésions endoscopiques les plus évocatrices de MC sont les ulcérations apthoïdes, les ulcérations en carte de géographie et les ulcérations en rails. Elles ne sont cependant pas spécifiques de la MC, car elles peuvent être rencontrées au cours de colites bactériennes et de RCH. En histologie, les deux éléments les plus évocateurs de MC sont les fissures et les granulomes épithélioïdes et géantocellulaires.

Sans être pathognomonique, la découverte de granulomes à l'examen histologique de biopsies ou de pièces opératoires permet d'asseoir le diagnostic de MC. Les granulomes n'étant retrouvés que dans moins des 30 % d'authentiques cas de MC, le diagnostic repose toujours sur un faisceau d'arguments cliniques, endoscopiques et histologiques.

Un examen proctologique clinique, à la recherche de lésions caractéristiques de MC (fissures latérales, ulcérations endo-anales, pseudo-marques ulcérées) doit être fait : il permet parfois la suspicion et il est toujours nécessaire à l'état des lieux lésionnel initial. Si l'on suspecte une atteinte de l'intestin grêle, celle-ci doit être recherchée, pour les segments inaccessibles à l'endoscopie conventionnelle par transit baryté de l'intestin grêle. En cas d'anomalies, l'inventaire des lésions peut être affiné par entéro-tomodensitométrie et/ou entéro-IRM. Le recours à l'entéroscopie par vidéocapsule reste pour le moment cantonné aux cas où le diagnostic différentiel entre MC et RCH est difficile.

Globalement, les arguments les plus forts pour le diagnostic positif de MC sont l'atteinte de l'intestin grêle, la présence de lésions ano-périnéales, le caractère discontinu et multiségmentaire des lésions, les fissures transmursales histologiques et le granulome épithélioïde et géantocellulaire (mis en évidence dans environ 30 % des cas au cours de la maladie, plus rarement d'emblée).

2.1.2. Diagnostic de la recto-colite hémorragique

La RCH, à la différence de la MC, n'atteint que le rectum et le côlon et jamais le reste du tube digestif. Elle peut s'accompagner de quelques lésions iléales, mais modérées et non spécifiques. Le diagnostic doit être évoqué lors de diarrhée prolongée, surtout hémorragique et lors de syndrome dysentérique, même *a minima* (évacuations afécales glaireuses et/ou hémorragiques accompagnant des selles par ailleurs normales). Par ailleurs, une RCH *pauci* ou asymptomatique doit être cherchée dans l'inventaire d'une modification récente du transit intestinal associé à une altération de l'état général et/ou une carence martiale et/ou un syndrome inflammatoire inexpliqué.

La confirmation diagnostique repose sur un faisceau d'arguments endoscopiques et histologiques. L'aspect endoscopique caractéristique de la RCH est une atteinte continue, commençant dès la jonction ano-rectale, s'étendant plus ou moins loin vers l'amont et s'interrompant de façon assez brusque. L'existence d'un deuxième foyer inflammatoire cœcal péri-appendiculaire est classique. Le rectum peut être moins atteint que les segments en amont, spontanément ou du fait de l'utilisation récente de lavements à visée thérapeutique. La muqueuse est rouge, granitée, fragile, saignante au contact. Dans les formes les plus sévères apparaissent des ulcérations de taille et de forme variable, parfois sévères : ulcères profonds mettant à nu la musculature, ulcérations en puits, parfois associées à des décollements muqueux.

En histologie, les lésions les plus évocatrices de RCH sont une forte déplétion en mucus, la diminution nette de la densité cryptique, la distorsion sévère des cryptes, une surface muqueuse franchement villositaire. L'infiltration inflammatoire muqueuse « superficielle » (par opposition à l'infiltration inflammatoire « en profondeur » du chorion au cours de la MC) par des polynucléaires neutrophiles et les abcès cryptiques bien qu'évocateurs de RCH, ne sont pas pathognomoniques.

2.2. Histoire naturelle de la maladie de Crohn

Les MICI sont des maladies chroniques, de toute la vie, évoluant habituellement par poussées entrecoupées de rémissions, de façon peu prévisible, et de gravité très variable d'un malade à l'autre, et, chez le même malade, d'une phase évolutive à l'autre. Les grandes études de cohorte, notamment danoises (Langholz *et al.*, 1994; Munkholm *et al.*, 1995) ont permis de mieux comprendre leur histoire naturelle.

2.2.1. Évolution endoscopique post-opératoire

L'évolution anatomique globale de la MC est mieux connue depuis la description du modèle de la récurrence postchirurgicale⁽²⁾ (Olaison *et al.*, 1992; D'Haens *et al.*, 1998). La lésion inaugurale, observée dès les huit premiers jours suivant l'intervention, est un infiltrat inflammatoire focal sur l'iléon pré-anastomotique, puis apparaissent des ulcérations aphtoïdes, visibles six mois plus tard chez deux patients sur trois, puis des ulcérations superficielles de plus en plus larges, puis creusantes, précédant la constitution d'une sténose. La sténose peut favoriser le développement d'une fistule en amont, ou celle-ci peut apparaître en pleine zone inflammatoire. L'apparition des symptômes est décalée, de deux ans environ suivant la récurrence endoscopique. L'aggravation endoscopique progressive, bien qu'habituelle, n'est pas inéluctable : l'aspect lésionnel peut s'améliorer chez quelques malades, et les ulcérations aphtoïdes disparaître.

2.2.2. Évolution chez les malades non opérés

L'évolution naturelle de la MC non opérée semble très proche de celle du modèle de la récurrence postchirurgicale. Ainsi, il n'est pas rare de découvrir lors d'une laparotomie pour autre cause (par exemple cholécystectomie ou appendicectomie), ou lors d'une coloscopie de dépistage, une atteinte caractéristique de MC qui était totalement silencieuse cliniquement, et qui ne deviendra symptomatique que plusieurs années plus tard.

L'observation à long terme des lésions buccales et des lésions anopérinéales montre que des lésions anatomiques même sévères sont toujours susceptibles de régresser, laissant derrière elle des cicatrices fibreuses inactives. Une sténose éteinte, *i.e.* indemne de lésions inflammatoires actives, peut rester intacte et silencieuse de nombreuses années. Une fistule peut se fermer. Il est possible d'observer l'involution, puis la disparition, de pseudo-marques péri-anales de grande taille.

(2) Rechute après exérèse chirurgicale d'une portion d'intestin lésée.

2.2.3. Localisation des lésions

La classification de Vienne (Gasche *et al.*, 2000), prenant en compte l'extension anatomique des lésions avant la première intervention chirurgicale⁽³⁾, distingue quatre localisations différentes : les formes iléales pures (débordant éventuellement sur le cæcum), les formes coliques pures, les formes iléo-coliques, et les formes proximales, *i.e.* touchant le tube digestif à n'importe quel endroit en amont du dernier mètre d'intestin grêle. La reprise de cinq grandes séries de la littérature totalisant plus de 3 000 observations donne 26 % de formes iléales (18-30 % selon les séries), 36 % de formes coliques (20-48 %), 23 % de formes iléo-coliques (12-44 %) et 15 % de formes proximales (6-20 %).

La localisation initiale des lésions, au moment de la première poussée, est déterminante pour les localisations ultérieures. Ainsi, l'atteinte iléale isolée restera presque toujours iléale.

L'atteinte anopérinéale est observée initialement chez moins d'un quart des patients, et, à un moment ou un autre de l'évolution, chez environ 50 % d'entre eux (Schwartz *et al.*, 2001).

2.2.4. Formes sténosantes, pénétrantes et inflammatoires

(Greenstein *et al.*, 1988) ont suggéré que les patients opérés pour complication perforante (abcès, fistule ou péritonite) étaient plus vite exposés au développement d'une récurrence chirurgicale, et que celle-ci survenait préférentiellement sur le même mode lésionnel.

Cette distinction a été étendue à l'ensemble des MC, en définissant trois phénotypes différents :

- les formes pénétrantes (ou perforantes) ;
- les formes sténosantes ;
- et les formes ni perforantes ni sténosantes, appelées inflammatoires. C'est une des composantes de la classification de Vienne (Gasche *et al.*, 2000). En réalité, ce phénotype est fortement lié au siège initial des lésions et, chez un même individu, il change au cours de l'évolution de la maladie.

Il faut mettre à part l'atteinte jéjunale, essentiellement sténosante, et les lésions anopérinéales, quasi-exclusivement perforantes, c'est-à-dire compliquées d'ulcérations larges, de fistules et/ou d'abcès (Schwartz *et al.*, 2001 ; Cosnes *et al.*, 2002b). D'autre part, il n'est pas rare de voir coexister chez le même malade, et même sur un même segment de l'intestin grêle, à la fois des lésions perforantes et sténosantes.

2.2.5. Séméiologie des poussées

Avant la survenue de complications, l'évolution de la MC se fait le plus souvent par poussées entrecoupées de phases de rémission, plus rarement sur un mode continu, chronique et actif (10-15 % des patients) (Loftus Jr. *et al.*, 2002). L'expression clinique des poussées dépend du siège des lésions (les formes coliques sont souvent bruyantes alors que l'atteinte isolée du grêle peut ne donner aucun symptôme pendant des années) et de l'intensité de la réponse inflammatoire.

2.2.6. Préviation de la gravité globale de la maladie

Une étude récente (Beaugerie *et al.*, 2006) analysant seulement les cinq premières années suivant l'établissement du diagnostic retient comme critères prédictifs de gravité un âge de moins de 40 ans des patients, l'existence de lésions anopérinéales et la nécessité initiale d'un traitement corticoïde, indicateur rétrospectif de la gravité clinique de la première poussée.

Le risque chirurgical paraît plus élevé en cas d'atteinte iléale, car celle-ci expose davantage aux risques de complication sténosante ou perforante dont le traitement est chirurgical. Le risque de nécessiter la pose d'un anus artificiel définitif est surtout lié à la présence de lésions anopérinéales (mais celles-ci peuvent s'installer secondairement et ont souvent une évolution propre, peu dépendante de celle de la maladie intestinale) et à l'atteinte rectale associée.

2.2.7. Extinction de la maladie au fil du temps

Le suivi de l'activité de la maladie année par année tel qu'il a été réalisé dans la cohorte danoise (Munkholm *et al.*, 1995), cohorte particulièrement précieuse car de bonne représentativité et sans perdus de vue, montre un pourcentage constant de malades en rémission, 55 %, pourcentage qui ne tend pas à augmenter avec l'ancienneté

(3) Précédée le plus souvent d'une exploration complète de l'extension des localisations anatomiques des lésions.

de la maladie. Il n'y a donc pas d'évolution évidente dans le sens de l'extinction de la maladie avec le temps. Il existe simplement une petite tendance pour une plus forte probabilité de passage de l'activité à la rémission que de la rémission à l'activité après 15 ans d'évolution. En fait, la maladie tend à évoluer par phases successives de durée variable selon les patients, de l'ordre de trois à sept ans, tantôt d'activité, tantôt de rémission. Il faut noter que ces constatations ont été faites dans une série de patients non traités par les immunosuppresseurs.

2.2.8. Nécessité d'intervention chirurgicale

La progressivité des lésions anatomiques finit tôt ou tard par conduire au développement de complications qui ne sont pas accessibles au traitement médical et doivent être opérées. Il arrive aussi, quoique plus rarement, que la maladie échappe au traitement médical. Dans la cohorte danoise, le risque cumulé de chirurgie d'exérèse intestinale est de 82 % à 20 ans (Munkholm *et al.*, 1995).

2.2.9. Mortalité

La mortalité est légèrement augmentée par rapport à une population normale, de l'ordre de 5 % à 15 ans, dans la plupart des études de population. Dans la cohorte danoise (Munkholm *et al.*, 1995), il a été noté une augmentation plus marquée de la mortalité tardive (plus de 20 ans après le diagnostic) chez les femmes diagnostiquées avant l'âge de 50 ans.

Dans ces diverses études, seulement un quart à un tiers des morts sont directement imputables à la MC (formes étendues du grêle, dénutrition, complications opératoires, cancer). Le tabagisme, plus fréquent dans une population de MC que dans la population générale, explique probablement une partie de l'excès de mortalité.

2.2.10. Effets des traitements dans l'histoire naturelle de la maladie de Crohn

Si les poussées de MC peuvent avoir une évolution spontanée favorable (25 à 40 % s'arrêtent d'elles-mêmes), leur expression clinique bruyante nécessite habituellement un traitement rapide. La plupart des auteurs recommandent une stratégie de traitement dite de réponse graduée, *i.e.* proportionnée à l'intensité des symptômes, la gravité des lésions anatomiques et l'évolutivité globale de la maladie.

Les poussées franches sont traitées par les corticoïdes qui entraînent une rémission complète à partielle chez 60 à 90 % des patients, mais un tiers d'entre eux deviennent cortico-dépendants (Faubion Jr. *et al.*, 2001). La corticothérapie n'influence pas l'évolution à long terme de la maladie. Les formes corticodépendantes et chroniques actives justifient un traitement immunosuppresseur, dont la prescription devient de plus en plus fréquente et précoce. Cependant, même si la maladie est mieux comprise et l'utilisation des traitements mieux maîtrisée, les progrès thérapeutiques n'ont pas encore d'impact significatif sur l'histoire naturelle : la revue systématique des publications des 40 dernières années consacrées à l'évolution de la MC a montré que les principales caractéristiques évolutives et le pronostic de la maladie n'avaient pas changé entre 1966 et 2004.

L'efficacité à long terme des immunosuppresseurs dans la MC, notamment leur effet d'épargne corticoïde, est incontestable. Cette efficacité clinique est associée à une efficacité endoscopique et histologique chez plus d'un patient sur deux, mais cet effet paraît seulement suspensif, l'arrêt du traitement exposant le malade à un risque accru de reprise évolutive au cours des mois suivants. L'utilisation plus large des immunosuppresseurs n'a pas entraîné d'effet sur le risque d'être opéré, risque qui est resté remarquablement constant au cours des 25 dernières années.

L'infliximab (anticorps monoclonal murin humanisé à 75 %-anticorps anti-TNF α) est capable d'entraîner une réponse (60 %) et/ou une rémission (40 %) clinique et anatomique chez certains malades atteints de formes luminales et/ou ano-périnéales sévères et réfractaires. L'effet sur les formes fistulisantes est particulièrement intéressant. Cependant, même sous traitement d'entretien par des injections toutes les huit semaines, environ la moitié des malades échappent ou deviennent intolérants à ce traitement au bout de deux ans. Une alternative possible est de passer à d'autres anti-TNF, soit totalement humanisé (l'adalimumab), soit retard (le certolizumab).

L'évolutivité moyenne de la MC des anciens fumeurs est égale à celle des non-fumeurs, et moindre que celle des fumeurs actifs. Une étude d'intervention a bien montré que, un an après l'obtention du sevrage tabagique, la maladie devient moins agressive, avec des risques de poussée et de recours aux corticoïdes et aux immunosuppresseurs diminués par rapport aux fumeurs et identiques aux non-fumeurs. Néanmoins, seulement une faible proportion des malades (environ 10 %) parvient à s'arrêter de fumer (Cosnes *et al.*, 2001).

L'exérèse chirurgicale des lésions de la MC peut mener à une rémission symptomatique, mais ne guérit pas de la maladie, qui récidive inéluctablement. La chirurgie est donc soit un traitement électif des complications, soit une aide au traitement médical.

2.3. Épidémiologie et facteurs de risque des maladies inflammatoires chroniques intestinales

Les MICI sont devenues dans les 50 dernières années un des problèmes majeurs de la gastroentérologie du monde occidental. Dans ces régions, le risque cumulé sur une vie d'avoir une MC ou une RCH est estimé entre 0,5 % et 1 % (Loftus Jr., 2004). Les MICI sont en émergence dans d'autres pays, notamment en Asie, au Maghreb et en Amérique Latine.

2.3.1. Épidémiologie descriptive

2.3.1.1. Incidence et prévalence

Historiquement, les incidences les plus élevées de MICI ont été rapportées dans des études provenant de Scandinavie, du Royaume-Uni et des États-Unis d'Amérique. Au cours des années 1980 et 1990, les publications de données d'incidence et de prévalence se sont multipliées sur le continent européen, au Moyen Orient, dans la zone pacifique et en Amérique Latine, traduisant l'émergence de ces maladies dans le monde et remettant en question le confinement géographique des MICI à l'hémisphère nord (Loftus Jr., 2004).

En Europe, l'incidence annuelle de la MC varie de 0,7 à 9,8 pour 100 000 habitants et celle de la RCH de 1,5 à 20,3 pour 100 000 habitants, alors que la prévalence varie de 8,3 à 214 pour 100 000 habitants pour la MC et de 21,4 à 243 pour 100 000 habitants pour la RCH (Loftus Jr., 2004). L'extrapolation de ces chiffres à l'ensemble de l'Union européenne aboutit à une estimation de 2,2 millions de personnes atteintes de MICI. Une étude multicentrique européenne a identifié les plus fortes incidences de RCH en Islande et les plus faibles dans le sud du Portugal (Shivananda *et al.*, 1996). Pour la MC, les plus fortes incidences ont été mises en évidence aux Pays-Bas et en France (dans le département de la Somme notamment), la plus basse en Grèce. Globalement, on dénombrait 40 % de RCH et 80 % de MC en plus dans les centres du Nord de l'Europe que dans les centres du Sud. Les premières données d'incidence des MICI en France datent de la fin des années 80 (Gower-Rousseau *et al.*, 1994). La France se caractérise en Europe par une incidence annuelle pour 100 000 habitants élevée pour la MC (6,0) et basse pour la RCH (4,0) alors que l'inverse est rapporté dans la plupart des autres pays européens (Loftus Jr., 2004; Molinie *et al.*, 2004). Les incidences sont similaires dans l'ensemble des régions françaises, à l'exception notable de la Haute-Garonne où l'incidence de MC est plus basse que celle de la RCH (Flamenbaum *et al.*, 1997; Pagenault *et al.*, 1997). À partir des chiffres d'incidence, on peut estimer la prévalence pour 100 000 habitants de la MC en France autour de 100 et celle de la RCH à 60. Au total, environ 100 000 personnes seraient atteintes de MICI dans notre pays.

En Amérique du Nord, l'incidence annuelle de la MC pour 100 000 habitants varie de 3,1 à 14,6 et celle de la RCH de 2,2 à 14,3 alors que la prévalence pour la MC varie de 26 à 199 et de 37,5 à 230 pour la RCH (Loftus Jr., 2004). Le nombre de personnes atteintes de MC et de RCH serait ainsi respectivement de 630 000 et de 780 000.

Les MICI ont longtemps été considérées comme rares dans les autres régions du monde à l'exception d'Israël, de l'Australie et de l'Afrique du Sud. Cependant, une augmentation rapide de l'incidence de la RCH (et dans une moindre mesure de la MC) a été observée ces dernières années au Japon, en Corée du Sud, dans le nord de l'Inde et en Amérique Latine (Loftus Jr., 2004).

Plusieurs conclusions peuvent être tirées des variations de fréquence des MICI dans le temps et dans l'espace (Loftus Jr., 2004). Une forte augmentation de l'incidence des MICI a été observée dans le monde occidental après la seconde guerre mondiale, suivie plus récemment d'une apparente stabilisation (Loftus Jr., 2004). Cependant, plusieurs études récentes (Écosse, Suède, Nord-Ouest de la France) ont mis en évidence une poursuite modeste de l'augmentation d'incidence de la MC, et notamment des formes pédiatriques, suggérant que les facteurs de risque environnementaux sont toujours évolutifs dans ces régions (Armitage *et al.*, 2004; Molinie *et al.*, 2004). L'augmentation de l'incidence de la RCH a précédé dans le temps celle de la MC et les pays à forte incidence de MC ont en général une incidence élevée de RCH, à l'exception de la France et de la Belgique (Ekbohm, 2004; Loftus Jr., 2004). Ceci suggère l'existence de facteurs de risque communs aux deux maladies. L'augmentation des chiffres d'incidence des MICI dans les pays en développement semble corrélée à une occidentalisation du mode de vie. En Europe, en plus d'un gradient nord (caractérisé par une forte incidence)-sud (caractérisé par une faible incidence), un gradient ouest-est pourrait émerger (Ekbohm, 2004).

2.3.1.2. Sexe et âge

Dans la plupart des études, la MC est plus fréquente chez la femme à partir de l'adolescence (sexe ratio : 1,2-1,4), suggérant l'intervention de facteurs hormonaux (Loftus Jr., 2004). À l'inverse, il existe une faible prédominance masculine dans la RCH. Un pic d'incidence est fréquemment observé dans la tranche d'âge 20-40 ans, et est suivi d'une décroissance rapide pour la MC, plus progressive pour la RCH (Gower-Rousseau *et al.*, 1994; Molinie *et al.*, 2004). Le pourcentage de formes pédiatriques (début de la maladie avant 17 ans) est inférieur à 10 %.

2.3.1.3. Ethnies

La faible incidence de MICI constatée aux États-Unis chez les sujets de descendance africaine par rapport aux sujets européens dans les années 80, reflétait probablement une différence d'accès aux soins. Les études plus récentes montrent que cette différence s'efface avec le temps. La faible incidence de MC chez les Américains d'origine asiatique ou latino-américaine semble par contre réelle (Loftus Jr., 2004).

Les études des variations d'incidence dans des groupes ethniques ayant migré dans des zones géographiques différentes de leur région d'origine sont particulièrement instructives. Ainsi, les Asiatiques du Sud ayant migré au Royaume-Uni ont vu leurs chiffres d'incidence de MICI, initialement bas, rejoindre rapidement celui du pays d'accueil illustrant l'importance du mode de vie dans la survenue de ces maladies (Probert *et al.*, 1992; Montgomery *et al.*, 1999). L'interprétation des données dans différentes populations juives est plus complexe. La sur-fréquence de MICI chez celles-ci est en effet d'autant plus importante qu'elles vivent dans un pays à forte incidence de ces maladies, traduisant la modulation de facteurs de risque génétiques par l'environnement (Grossman *et al.*, 1989).

2.3.2. Épidémiologie analytique

2.3.2.1. Facteurs de risque environnementaux

De nombreux facteurs de risque environnementaux ont été évoqués dans les MICI, mais les seuls clairement établis sont le tabac et l'appendicectomie.

■ **Le tabac** a des effets opposés sur les MICI : il protège de la RCH mais favorise la survenue d'une MC (Calkins, 1989; Cosnes, 2004). Le risque de RCH est réduit d'environ 40 % chez les fumeurs. À l'inverse, les ex-fumeurs ont un risque 70 % plus élevé de développer une RCH que les non-fumeurs. Ce risque est particulièrement important dans les deux premières années suivant le sevrage. Une fois déclarée, la RCH est moins sévère chez les fumeurs : elle s'étend moins souvent sur le côlon proximal, nécessite plus rarement le recours à la corticothérapie et à une colectomie. La cessation du tabagisme aggrave la maladie et sa reprise l'améliore. Un essai thérapeutique avec des patchs de nicotine n'a pas permis de reproduire cet effet (Coulie *et al.*, 2001). À l'inverse, le tabagisme multiplie par plus de deux le risque de MC. L'arrêt du tabac maintient un sur-risque (de l'ordre de 1,5) qui ne disparaît qu'après au moins 4 ans de sevrage. La MC a une évolution plus sévère chez les fumeurs : le nombre de poussées est augmenté, le risque de complications (abcès, fistules) est plus élevé et le recours aux corticoïdes et aux immunosuppresseurs est plus fréquent, surtout chez la femme. Le risque d'intervention chirurgicale et de récurrence post-opératoire est également accru. L'effet bénéfique du sevrage est observé dès la première année : le risque de rechutes est réduit de moitié et cet effet est comparable à celui d'un traitement immunosuppresseur.

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cet effet ambivalent du tabac dans les MICI, mais aucune n'a été validée à ce jour. Le tabagisme passif, notamment dans l'enfance, n'est pas connu pour influencer le risque de MICI.

■ **L'appendicectomie** réduit de près de 70 % le risque de RCH (Koutroubakis *et al.*, 2002). Cet effet protecteur n'existerait qu'en cas d'intervention réalisée avant l'âge de 20 ans et pour appendicite aiguë ou lymphadénite mésentérique (et non de façon erronée pour un syndrome douloureux abdominal) (Duggan *et al.*, 1998; Andersson *et al.*, 2001). Comme dans le cas du tabac, et de manière indépendante, l'appendicectomie est associée à une évolution moins grave de la RCH avec un risque réduit de colectomie (Cosnes *et al.*, 2002a). L'appendicectomie pourrait augmenter le risque de MC (Russel *et al.*, 1997; Koutroubakis *et al.*, 1999), mais cet effet reste discuté. Le mécanisme de l'effet protecteur de l'appendicectomie contre la RCH est inconnu.

■ **Autres facteurs incriminés** : la prise de contraceptifs oraux augmente légèrement le risque de MICI, notamment de MC (risque relatif : 1,4 [IC 95 % : 1.1-1.9]) (Loftus Jr., 2004). Par contre, les œstrogènes faiblement dosés en œstrogènes n'influencent pas l'évolution de ces maladies.

De très nombreux facteurs alimentaires ont été incriminés dans les MICI, mais aucun n'a été formellement identifié (Jarnerot *et al.*, 1983; Lomer *et al.*, 2002; Ekblom et Montgomery, 2004). La plupart des études sont contradictoires et méthodologiquement critiquables.

La plupart des patients atteints de MICI incriminent le stress et les facteurs psychologiques dans la survenue et l'évolution de leur maladie. Cependant, une étude récente du Registre EPIMAD n'a pas montré d'influence significative d'événements de vie considérés comme traumatisants sur la survenue d'une MC ou d'une RCH. De même, aucune étude n'a démontré leur influence sur la survenue des poussées une fois la maladie déclarée (Levenstein *et al.*, 1994).

L'environnement dans l'enfance pourrait avoir un rôle particulièrement important dans la survenue d'une MICI (Gent *et al.*, 1994). La répartition géographique et l'évolution dans le temps de ces maladies ont fait émettre l'hypothèse qu'un niveau d'hygiène élevé dans l'enfance pourrait être associé à un risque supérieur de MICI. À l'inverse, les enfants vivant dans un milieu défavorisé au contact d'infections bactériennes et/ou

parasitaires seraient protégés de ce risque du fait d'une meilleure « éducation » de leur système immunitaire. Cette théorie, également en vogue pour d'autres maladies dysimmunitaires comme l'asthme ou le diabète de type 1, n'a pas été confirmée. À l'inverse, plusieurs études ont révélé une fréquence accrue d'infections périnatales et infantiles et une exposition plus importante dans l'enfance aux antibiotiques chez les patients atteints de MICI. Le rôle de l'allaitement est controversé : protecteur, sans effet ou même facteur de risque dans une étude française récente (Baron *et al.*, 2005).

2.3.2.2. Facteurs de risque génétiques

L'importance des facteurs de risque génétiques dans les MICI a été suggérée par la prédisposition élevée pour ces maladies observées dans certaines populations comme les Juifs Ashkénazes, les associations rares avec certaines maladies génétiques comme le syndrome de Turner et d'Hermansky-Pudlak et surtout par les observations concernant la concordance pour ces maladies dans des couples de jumeaux et la survenue de cas familiaux (Colombel *et al.*, 1996 ; Peeters *et al.*, 1996 ; Ahmad *et al.*, 2004).

Chez des vrais jumeaux (monozygotes génétiquement identiques), le taux de concordance est de 20-60 % pour la MC et de 5-15 % pour la RCH. Ces pourcentages sont beaucoup plus faibles chez des faux jumeaux (dizygotes et génétiquement semi-identiques) : 0-6 % et 0-3 % respectivement (Tysk *et al.*, 1988 ; Halfvarson *et al.*, 2003). Cette différence témoigne d'une prédisposition génétique, plus importante dans la MC que dans la RCH.

Le pourcentage de formes familiales de MICI varie dans la littérature de 5 à 20 % (Ahmad *et al.*, 2004). Au sein d'une famille, l'observation de l'une ou l'autre maladie est la quasi-règle, même si des formes mixtes (MC et RCH au sein d'une même famille) ne sont pas rares, traduisant l'existence de facteurs de risque communs aux deux maladies. Les risques relatifs de MC et de RCH pour les apparentés sont du même ordre que ceux observés dans le diabète de type 1. En tenant compte de la fréquence des maladies, le risque absolu pour les apparentés au premier degré (père, mère, frère-sœur, enfant) d'un malade atteint de MC est de l'ordre de 1 à 3 %. Pour la RCH, le risque est de l'ordre de 1 %. Ces risques décroissent très vite pour les apparentés au deuxième degré (oncle, neveu). Quand les deux parents sont atteints, le risque s'élève à plus de 1/3 après 20 ans. Au sein d'une famille où plusieurs sujets sont atteints, on observe souvent une similitude dans la présentation de la maladie (localisation, complications, *etc.*) mais les formes familiales ne sont pas plus graves que les formes sporadiques.

La confirmation d'une prédisposition génétique de la MC a été apportée par la découverte en 2001 du premier gène de susceptibilité à la maladie : NOD2/CARD15 situé sur le chromosome 16 (Hugot *et al.*, 2001). Un variant de ce gène est présent chez un malade sur deux et 15 % de sujets sains. Le gène n'est donc ni nécessaire ni suffisant pour que la maladie survienne. Il n'intervient pas dans la RCH. L'importance de ce gène varie selon les populations. Ainsi la MC ne semble pas associée au gène NOD2/CARD15 en Asie ou chez les afro-américains. Les patients atteints de MC sont souvent porteurs d'une mutation sur chacun de leurs chromosomes avec un effet dose des mutations : le risque relatif de MC est de 2 à 4 pour les sujets porteurs d'une seule mutation alors qu'il est de 10 à 35 pour les sujets ayant deux mutations. NOD2/CARD15 est associé à la MC de l'intestin grêle et grêlo-colique et l'effet dose des mutations est aussi constaté dans l'expression clinique de la maladie : les patients avec deux mutations ont un âge de début plus jeune et une évolution plus fréquente vers les sténoses (Lesage *et al.*, 2002). Ce gène code pour une protéine qui intervient dans la reconnaissance de composants bactériens (peptidoglycane) par les macrophages, les entérocytes et probablement d'autres cellules. Le mécanisme physiopathologique par lequel les mutations du gène prédisposent à la MC reste discuté.

Une dizaine d'autres gènes ont été identifiés depuis 2007 (Mathew, 2008). Ces gènes sont impliqués dans la réponse inflammatoire (IL23R, TNFSF15, *etc.*) ou la réponse immunitaire innée de l'hôte (IRGM, ATG16L1, NOD2). D'autres gènes ont un rôle moins bien connu (SLC22A4/5 par exemple). Enfin, certaines régions du génome contiennent vraisemblablement un gène de susceptibilité à la MC, mais celui-ci reste à déterminer (chromosomes 5, 6, 10, 14, 19 par exemple).

En plus des gènes identifiés, d'autres gènes sont à découvrir et des résultats en cours de publication montrent qu'il existe probablement plus de 30 gènes de susceptibilité à la MC. Finalement, d'autres gènes, non impliqués dans la susceptibilité aux MICI, pourraient moduler leur expression clinique. Ainsi, certains allèles HLA de classe II ont été associés à des formes plus sévères de RCH et d'autres à la survenue de manifestations extra-intestinales.

En pratique clinique, il n'y a actuellement aucune indication à rechercher la présence des mutations du gène NOD2/CARD15 ou d'autres gènes ni chez les malades ou leurs parents ni en cas de suspicion de MC. Les parents de sujets atteints de MC peuvent être prévenus du (léger) sur-risque qu'ils courent afin de consulter précocement en cas de symptômes digestifs évocateurs et d'éviter de fumer.

2.4. Hypothèses physiopathologiques de la maladie de Crohn

Compte tenu des caractéristiques anatomo-cliniques et épidémiologiques de la MC et des facteurs de risque reconnus, trois grandes catégories d'hypothèses physiopathologiques seront étudiées. Dans ce cadre, un chapitre particulier sera consacré à *MAP*.

2.4.1. Anomalies immunitaires : activation immunitaire

La MC est donc **la résultante de l'action de facteurs d'environnement** (en particulier d'antigènes bactériens de la flore intestinale) **sur des sujets génétiquement susceptibles qui entraînent une hyper activation du système immunitaire à l'origine des lésions inflammatoires.**

Les cellules immunocompétentes ont des récepteurs extra-cellulaires (TLR4, TLR2) et des récepteurs intra-cellulaires (NOD1 et NOD2/CARD 15) aux produits bactériens. Les trois mutations les plus fréquentes de Nod2 associées à la MC entraînent un défaut d'activation de la voie du NF kappa B par le muramyl dipeptide (MDP) bactérien. Par ailleurs, la mutation NOD2/CARD15 est associée à un défaut de clairance (élimination) des bactéries invasives dans les cellules épithéliales (salmonelles par exemple) et à un déficit de production des alpha-défensines, autres facteurs cellulaires antibactériens. Le défaut de clairance bactérienne normale, laisserait donc pénétrer et proliférer une quantité anormalement élevée de bactéries intra-cellulaires. Cette hypothèse est renforcée par la récente découverte du rôle des gènes de l'autophagie (ATG16L1 et IRGM) dans la MC. Ces gènes contribuent en effet eux aussi à la clairance intracellulaire des bactéries.

L'activation des cellules immunitaires intestinales entraîne en réaction une augmentation de la production de cytokines. Celles-ci sont classées en trois groupes fonctionnels : les cytokines inflammatoires/anti-inflammatoires, les cytokines immunorégulatrices et les chimiokines. L'équilibre entre les cytokines inflammatoires (IL 1 et 8, TNF alpha) et anti-inflammatoires (IL-1RA, IL-10, TGF bêta) régule l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire. Les cytokines immunorégulatrices interviennent dans la susceptibilité/résistance aux agents infectieux, les mécanismes allergiques et la régulation des cytokines inflammatoires. Elles sont classées :

- i. en profil Th1 (IL-2 et IFN gamma) impliquées dans l'activation du système immunitaire cellulaire et la résistance aux infections bactériennes, les réactions d'hypersensibilité retardée et la synthèse d'IgG2a ;
- ii. en profil Th2 (IL-4, IL-5 et IL-3) intervenant dans la synthèse d'IgE, l'activation et le recrutement des éosinophiles, la résistance aux infections parasitaires, les mécanismes allergiques et la susceptibilité aux infections bactériennes.

Dans la MC, il existe un excès de cytokines de type Th1. La voie de signalisation de l'IL23 semble devoir être considérée comme cruciale aujourd'hui. En particulier, la découverte de l'effet protecteur de mutations (probablement perte de fonction) du récepteur à l'IL23 plaide fortement en ce sens.

2.4.2. Interaction hôte-microbe

On comprend toutefois assez mal aujourd'hui la séquence qui conduit du défaut de réponse immunitaire innée à un excès de réaction inflammatoire.

Pour de nombreuses raisons, il est suspecté que les bactéries entrant en contact avec la muqueuse intestinale sont à l'origine de l'inflammation chez un sujet prédisposé présentant une immunité muqueuse altérée.

La participation d'agents microbiens à la physiopathologie de la MC chez ces sujets peut s'envisager selon trois aspects :

- 1) implication d'un agent infectieux particulier à l'origine de la maladie ;
- 2) rôle transitoire d'un agent infectieux capable de contribuer à l'inflammation intestinale ;
- 3) participation de la flore endogène saprophyte normale du tube digestif, sans agent infectieux spécifique.

Chacune de ces hypothèses fait, ou a fait, l'objet de recherches concernant les agents infectieux et les mécanismes physio-pathologiques associés.

- 1) Parmi les agents infectieux qui seraient susceptibles de participer aux lésions de la MC, outre *MAP*, les plus étudiés sont : le virus de la rougeole, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* LF82 et des *Yersinia*.

Le rôle du virus de la rougeole dans la MC a été suggéré par une étude suédoise montrant un parallèle entre l'augmentation de l'incidence de la MC dans ce pays dans les années 50 et la survenue d'épidémies de rougeole (Ekbohm *et al.*, 1994). Cette hypothèse a été renforcée par la description par les mêmes auteurs de cas de MC sévère chez des enfants dont la mère avait eu la rougeole pendant la grossesse (Ekbohm *et al.*, 1996).

Secondairement, un risque accru de MC a été attribué au vaccin vivant atténué contre la rougeole. À l'origine de nombreux débats, cette hypothèse est à ce jour infirmée.

Le rôle de *L. monocytogenes*, mis en évidence par immuno-histochimie dans trois quarts des pièces opératoires de formes familiales de MC dans une seule étude, n'a lui non plus jamais été confirmé.

Une souche particulière d'*E. coli* (LF82) adhérente et invasive a été rapportée comme plus fréquemment présente dans l'iléon de patients que dans l'iléon des contrôles (Darfeuille-Michaud *et al.*, 2004). Cette souche se caractérise par une adhérence particulière et une survie dans le macrophage. L'expression de la molécule CEACAM6 par l'épithélium intestinal des malades expliquerait la prévalence du germe chez ces derniers. Le lien de causalité entre cette bactérie et la maladie de Crohn n'est pas formellement établi.

Les *Yersinia* entéropathiques (*Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*) peuvent entraîner des entéropathies cliniquement très ressemblantes à la MC. Une équipe (Lamps *et al.*, 2003) a retrouvé de l'ADN de ces bactéries dans des lésions de la maladie de Crohn. Les lymphocytes des muqueuses digestives de patients de MC ont été montrés plus réactifs aux antigènes bactériens de *Y. enterocolitica* que ceux isolés des contrôles dans les études cas-témoins (Ibboston *et al.*, 1992). Enfin, un antécédent de yersiniose semble être un facteur de risque de développer ultérieurement une MC. L'ensemble de ces arguments établit *Yersinia* sp. comme un facteur de risque possible. Ici aussi, aucun lien de causalité n'a été formellement établi.

La présence de ces bactéries, ayant un pouvoir pathogène établi par ailleurs, a aussi été interprétée comme témoin de l'inflammation sans en être la cause inaugurale, compte tenu de leur présence fréquente dans le bol alimentaire.

- 2) De nombreuses études ont montré que des infections non spécifiques virales ou bactériennes, intestinales, mais aussi respiratoires, pouvaient précéder la révélation d'une MC. Dans cette hypothèse, l'agent non spécifique participerait à l'inflammation intestinale entretenue ensuite par d'autres mécanismes. Certaines séquences peptidiques bactériennes présentant des homologies structurales avec certains antigènes coliques de l'hôte, une réponse immunitaire dirigée à la fois contre les antigènes microbiens et les antigènes du soi, pourrait être à l'origine des lésions (auto-immunité).
- 3) Il existe de nombreux arguments en faveur d'un rôle amplificateur et peut-être inducteur des bactéries de la flore saprophyte endogène dans l'inflammation intestinale : les lésions muqueuses sont colonisées par un grand nombre de germes, notamment *E. coli*, *Streptococcus*. Un phénomène de translocation bactérienne (passage de bactéries de la flore intestinale vers les ganglions lymphatiques mésentériques et le foie) est probablement à l'origine de complications septiques au cours de la MC. Dans les modèles de colite expérimentale, la présence d'une flore bactérienne endogène est nécessaire à l'apparition des lésions et *a contrario*, l'administration de certains antibiotiques comme le métronidazole, atténue les lésions. En pratique clinique, de nombreux antibiotiques sont utilisés, surtout de manière empirique, car on ne dispose que de peu d'essais contrôlés.

Plusieurs mécanismes peuvent participer à l'induction d'une inflammation intestinale par les bactéries :

- a) augmentation de la perméabilité intestinale qui pourrait être à l'origine d'une stimulation anormale du système immunitaire muqueux par les bactéries lumineuses ;
- b) influence sur la domiciliation de cellules inflammatoires périphériques dans le tube digestif ;
- c) stimulation des lymphocytes T de la muqueuse intestinale à l'origine de lésions en particulier par des superantigènes bactériens ;
- d) induction d'une réponse immunitaire intestinale inadaptée de l'hôte.

Certains composants de la flore intestinale pourraient avoir un rôle plus important que d'autres dans le déclenchement de l'inflammation (*Bacteroides vulgatus* par exemple).

Chez l'homme, le rôle de la flore bactérienne dans la MC a été illustré par les travaux portant sur la récurrence endoscopique post-opératoire. Après résection iléo-colique droite, une récurrence endoscopique survient dans plus de trois quarts des cas six à douze mois après le rétablissement de continuité. Si l'anastomose est protégée du flux fécal par une stomie d'amont, elle reste indemne de lésions. On ignore ce qui, dans le flux fécal, est responsable de la réactivation de la MC, mais le rôle de la flore bactérienne est probable.

Enfin, récemment, le rôle des helminthes a été suggéré. La disparition de l'infestation parasitaire chronique au cours du 20^e siècle dans les pays développés a été évoquée comme explication possible de l'épidémie de MC. Les parasites pluricellulaires sont connus pour réguler la réponse immunitaire des muqueuses de façon tolérogène. La disparition de cette infestation favoriserait une réponse pro-inflammatoire des muqueuses digestives et une sensibilité aux MICI. Des études préliminaires chez des malades atteints de MC et de RCH traités par des œufs d'helminthes de porc semblent encourageantes.

Il faut souligner que l'ensemble des recherches consacrées à la MC sont confrontées à de nombreux problèmes d'interprétation des résultats. Ils sont liés, entre autre, à l'hétérogénéité anatomoclinique de sa présentation, qui conduit certains auteurs à considérer la MC comme **un regroupement de maladies distinctes partageant des points communs** (Hanauer, 2006 ; Sartor, 2006 ; Baumgart et Carding, 2007 ; Baumgart et Sandborn, 2007), aboutissant à un tableau final comparable mais aux origines différentes.

Au total, la MC doit être comprise comme une maladie multifactorielle résultant de l'exposition de sujets génétiquement prédisposés à divers facteurs de risque. Les facteurs de risque génétiques sont complexes et la prédisposition génétique relève très probablement d'une combinaison de très nombreux gènes à risque présents à la fois chez un individu donné et à l'échelle de la population. Les facteurs de risque environnementaux, y compris microbiens, sont encore largement inconnus. La très forte augmentation d'incidence de la MC au cours de la seconde moitié du 20^e siècle témoigne cependant de leur impact. Ces facteurs de risque sont très certainement associés au développement du mode de vie occidental moderne. En Europe, la généralisation de ce mode de vie et la relative stabilisation de l'incidence de la maladie au cours de ces dernières années suggèrent une quasi-généralisation de l'exposition des sujets génétiquement à risque.

La localisation intestinale des lésions, les expériences de diversion du flux intestinal, les modèles animaux de colite inflammatoire et la récente découverte de gènes de susceptibilité à la maladie suggèrent fortement que la maladie résulte d'une anomalie de la réponse immune locale à des bactéries intestinales. La nature de ces bactéries reste toutefois sujette à débat. Pour beaucoup d'auteurs, la flore normale endogène (présente chez tout individu) serait seule responsable de la maladie et les lésions seraient induites par un déséquilibre de cette flore sous l'effet de facteurs exogènes (par exemple certains traitements), les changements de régime alimentaire induits par les nouveaux modes d'alimentation ou la disparition des parasites intraluminaux.

Pour d'autres auteurs, des bactéries relativement spécifiques et rencontrées de façon occasionnelle par un hôte prédisposé auraient un rôle essentiel dans l'initialisation des lésions. Parmi ces bactéries, les candidates les plus étudiées sont *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* adhérent et invasif (souche LF402), *Yersinia* entéropathogènes et MAP. Pour chacune de ces bactéries, leur rôle est suspecté sur des faisceaux d'arguments associant de façon variée des données épidémiologiques, cliniques, bactériologiques et immunogénétiques. Pour aucune de ces bactéries un lien de causalité n'a pu être formellement établi.

3. Relations entre *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* et la maladie de Crohn

3.1. Position du problème

Depuis sa description, des similitudes frappantes ont été notées entre la MC, iléo colite granulomateuse dont l'étiologie est inconnue et les infections à mycobactéries (Dalziel, 1913; Crohn *et al.*, 1932; Chiodini, 1989; Greenstein, 2003).

L'hypothèse d'une infection à *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) à l'origine de la MC a été réactivée en 1984 quand Chiodini *et al.* ont réussi à mettre en évidence chez trois patients atteints de MC des bactéries identiques en apparence à MAP (Chiodini *et al.*, 1984). Cette controverse s'est ensuite intensifiée à mesure qu'apparaissaient des publications contradictoires sur la fréquence relative de détection de la séquence *IS 900*, chez des patients atteints de MC, de rectocolite hémorragique (RCH) ou chez des témoins (Sanderson *et al.*, 1992). Cette hypothèse a été renforcée par d'autres arguments tels la mise en évidence d'*IS 900* par PCR dans la chaîne alimentaire (Millar *et al.*, 1996; Mishina *et al.*, 1996), dans l'eau potable, dans le lait maternel (Naser *et al.*, 2000) et tout récemment par la mise en évidence de MAP vivantes après culture du sang de patients atteints de MC. Ces travaux ont été fortement contestés ultérieurement. Certains des nombreux essais thérapeutiques testant les antibiotiques anti-mycobactéries dans le traitement de la MC ont donné des résultats positifs qui renforçaient cette hypothèse (Gui *et al.*, 1997).

3.1.1. Données microbiologiques

3.1.1.1. Cultures de MAP

Les cultures de MAP sont difficiles et longues et MAP peut exister sous une forme déficitaire difficile à identifier par les colorations usuelles (Ziehl-Neelsen). C'est la raison pour laquelle des techniques de biologie moléculaire (elles-mêmes considérées comme délicates à interpréter) sont habituellement utilisées. MAP a toutefois été isolé dans des cas isolés de MC (Greenstein, 2003).

Des cultures de MAP ont également été tentées à partir du sang périphérique. Dans un travail publié dans le Lancet en 2004, des MAP viables ont été obtenus par culture dans le sang des malades avec MICI : 14 sur 28 (50 %) avec MC, 2 sur 9 (22 %) avec RCH contre 0 sur 15 témoins (Naser *et al.*, 2004). L'interprétation de ces résultats est difficile d'autant que la corrélation entre MAP détectés par culture et par PCR faites en parallèle chez un même malade était très mauvaise.

Des MAP ont été cultivés à partir du lait de deux femmes atteintes de MC, mais ce travail unique n'a jamais été reproduit. D'autre part, dans les formes familiales de MC pour lesquelles l'un des deux parents et un ou plusieurs enfants sont atteints, il n'y a pas plus de transmission par la mère que par le père. Ceci est un argument contre une contamination par l'allaitement maternel.

Il existe donc des arguments pour associer MAP à la MC. Il est toutefois impossible de valider un lien de causalité selon le postulat de Koch⁽⁴⁾. En effet, l'agent infectieux ne peut être cultivé et identifié de façon univoque (les quelques résultats positifs obtenus n'ont pu être reproduits par d'autres équipes) tandis que l'hôte a une sensibilité variable en fonction de son patrimoine génétique.

3.1.1.2. Détection de MAP par PCR (*IS 900*)

La fréquence de détection de la séquence *IS 900* par PCR ou hybridation *in situ* et/ou cultures de MAP dans les tissus (prélevés par biopsie, pièce opératoire, ganglion lymphatique) de patients avec MC a été comparée à celle observée chez les malades atteints de RCH ou des témoins. Les études positives retrouvent en moyenne la séquence *IS 900* chez 40 % des patients atteints de MC (13 à 72 %), chez 10 % des RCH (0 à 31 %) et 10 % des

(4) Postulat de Koch classique :

1. Le micro-organisme doit être présent en abondance dans tous les organismes souffrant de la maladie, mais absent des organismes sains ;
2. Le micro-organisme doit pouvoir être isolé de l'organisme malade et cultivé *in vitro* ;
3. Le micro-organisme cultivé doit entraîner l'apparition de la maladie lorsqu'introduit dans un organisme sain ;
4. Le micro-organisme doit être à nouveau isolé du nouvel organisme hôte rendu malade puis identifié comme étant identique à l'agent infectieux original.

témoins (0 à 29 %). À titre d'exemple, un travail récent a détecté *IS 900* chez 52 % des MC, contre 2 % des RCH et 5 % des témoins non inflammatoires (Autschbach *et al.*, 2005). Cette étude a été la première à étudier la corrélation entre la présence d'*IS 900* et le phénotype de la maladie: il y avait plus de détection positive d'*IS 900* chez les sujets atteints de MC colique (70 %) contre 40 % dans les formes iléales distales. Il y avait une association faible avec la présence d'une atteinte anopérinéale et une durée de la maladie plus courte. Il n'y avait par ailleurs aucune association avec le sexe, l'âge au moment du diagnostic et la forme perforante ou non perforante de la maladie, ainsi qu'avec la présence ou non de granulomes.

Les valeurs chez les malades et surtout les témoins sont cependant très disparates d'une étude à l'autre. Ces grandes disparités rendent difficiles une conclusion ferme sur le portage « normal » du germe (dans les populations de témoins) et en conséquence sur un portage « anormal » chez les malades.

Dans les études négatives, le taux de détection d'*IS 900* est comparable chez les patients atteints de MC, de RCH ou chez les témoins et souvent proche de 0 %. Enfin, 13 études ne retrouvent aucun malade ou témoin porteur de *MAP*.

Une récente méta-analyse des données de la littérature (Feller *et al.*, 2007) a été publiée. Elle a pris en compte 28 études cas-témoins. 16 études n'ont pas été retenues pour des raisons méthodologiques dont les 13 études avec des résultats complètement négatifs chez les malades comme chez les témoins. Ces études portaient sur la détection de *MAP* en PCR et en sérologie (voir plus loin). Les 18 études analysées concernant la PCR ont été publiées entre 1992 et 2005 et portaient sur 47 participants en moyenne (extrêmes de 18 à 200). Sur les 18 études, 16 montraient une association positive entre *MAP* et MC. L'odds Ratio moyen était de 7,01 (95 % CI : 3,95–12,4).

Sous réserve de biais de publication classiques (les études négatives étant plus rarement publiées), de l'exclusion de plusieurs études négatives pour des raisons méthodologiques et de l'absence de spécificité maintenant reconnue de la séquence *IS 900* vis-à-vis de *MAP*, cette méta-analyse conclue à un lien entre *MAP* et MC, mais le rôle de la bactérie dans la physiopathologie de la MC reste à déterminer.

L'association entre séquences *IS 900* et MC, si elle est évocatrice, ne peut par elle-même établir de causalité. Selon une adaptation à la biologie moléculaire (pour des organismes non cultivables) du postulat de Koch⁽⁵⁾, la plupart des arguments de causalité restent ainsi à valider pour *MAP* dans la MC. Il faut noter que ce postulat ne s'applique pas à tous les agents pathogènes de manière absolue.

À l'inverse, pour expliquer le lien entre *MAP* et MC sans causalité, il a été évoqué que ce microbe présent dans l'environnement pourrait n'être qu'un simple contaminant. Il viendrait donc coloniser la muqueuse intestinale lésée, sans être la cause directe de la maladie. Cette hypothèse reste elle-même à valider.

En l'absence de démonstration formelle sur le plan microbiologique, d'autres arguments complémentaires sont à envisager.

3.1.2. Immunité vis-à-vis de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

En l'absence de démonstration formelle de causalité, la recherche d'une réaction immunitaire anormale vis-à-vis de *MAP* chez les patients atteints de MC a été étudiée.

3.1.2.1. Réaction immunitaire cellulaire vis-à-vis de *MAP*

Il existe à notre connaissance qu'une seule publication ayant analysé la réponse immunitaire cellulaire des patients atteints de MC vis-à-vis de *MAP* (Ibbotson *et al.*, 1992). Les auteurs n'ont pas retrouvé de réactivité particulière des lymphocytes de la muqueuse intestinale ou du sang périphérique vis-à-vis de divers antigènes de mycobactéries (dont *MAP*).

(5) Postulat de Koch adapté à la biologie moléculaire:

1. La séquence nucléique du micro-organisme doit être retrouvée dans la plupart des cas de la maladie;
2. La séquence nucléique du micro-organisme ne doit pas être retrouvée (ou rarement) chez des individus indemnes;
3. La séquence nucléique doit être détectée par hybridation dans les zones pathologiques d'un tissu ou d'un organe, et ne pas être détectée dans les zones saines du même tissu ou organe;
4. Le nombre de copies de la séquence nucléique du pathogène doit varier parallèlement aux évolutions cliniques, y compris sous traitement;
5. L'identification du micro-organisme déduite de la séquence nucléique doit être compatible avec les propriétés biologiques connues pour le phylum auquel il appartient;
6. Ces résultats moléculaires doivent être reproductibles.

3.1.2.2. Réaction immunitaire humorale

Les sérologies anti-*MAP* ont été recherchées chez l'homme à plusieurs reprises avec là encore des résultats très discordants. Ces discordances peuvent être attribuées à des différences méthodologiques (antigène utilisé, seuils de détection, etc.). Ainsi, on retrouve 35 % de séropositifs chez 283 MC, 144 RCH, 402 témoins indépendants et 138 témoins apparentés dans l'étude de Bernstein en 2004 (Bernstein *et al.*, 2004). Au contraire, il existe 77 % de séropositifs pour les antigènes P35 et P36 (autres antigènes bactériens de *MAP*) chez 61 MC, 8 % chez 12 RCH et 26 % chez 35 témoins sains apparentés dans l'étude de Naser en 1999 (Naser *et al.*, 1999). Il n'y avait dans ces études, aucune association entre la présence d'*IS 900* recherché par PCR et la présence d'une sérologie positive (Collins *et al.*, 2000; Bernstein *et al.*, 2004). Dans une autre étude, il existait un taux élevé d'anti-séquences antigéniques de *MAP* (14 kDa) à AhpC, AhpD et PPDJ chez dix patients atteints de MC versus 10 RCH. Par contre, ces anticorps ne déclenchaient *in vitro* aucune activité de type immunité cellulaire : pas de production d'interféron gamma, d'IL10, pas de stimulation des cellules immunocompétentes, ce qui n'est pas en faveur d'un pouvoir d'activation de l'immunité cellulaire par *MAP*. Les résultats de la littérature pris dans leur ensemble ne permettent pas aujourd'hui d'avoir une réponse simple sur la question, ces données pourraient s'expliquer en partie par la présence au cours de la MC, d'auto-anticorps anti-peptidique (en particulier la glutathion peroxydase) qui auraient une réaction immunitaire croisée avec *MAP*, comme cela a été suggéré dans un travail récent (Polymeros *et al.*, 2006).

Dans la méta-analyse récente discutée plus haut, sur 13 études publiées de 1984 à 2005 et incluant en moyenne 93 participants (extrêmes 33 à 685), dix rapportent une association entre sérologie positive et MC. L'OR moyen obtenu par la méta-analyse est 1,72 (95 % CI : 1,02-2,90), à la limite de la signification.

Là encore, sous les mêmes réserves que plus haut (en particulier l'exclusion des études complètement négatives), cette méta-analyse conforte l'hypothèse d'un lien entre MC et *MAP*. Ce lien apparaît statistiquement modeste. De manière inattendue, il est en particulier plus modeste que celui rapporté pour la présence de *MAP* dans les tissus (*cf. supra*). Il serait en effet attendu que la sérologie soit plus durablement positive que la présence du microorganisme.

Il faut de plus ajouter que les sérologies positives témoignent d'une réactivité anormale de l'hôte vis-à-vis d'un agent infectieux, mais ne permettent pas formellement de le considérer comme causal. Ainsi, les sérologies anti-*MAP* sont aussi fortement positives chez les patients atteints de maladie coeliaque (JP Hugot, communication personnelle). La sérologie positive témoignerait alors seulement d'une perméabilité intestinale accrue qui a été bien démontrée chez les patients atteints de MC et de maladie coeliaque. Renforçant cette interprétation, il est à noter que de multiples sérologies dirigées contre des agents infectieux variés tels que des bactéries (*E. coli* par exemple) ou des levures (*Saccharomyces cerevisiae* par exemple) sont bien montrées positives dans la MC sans que ces agents soient considérés comme ayant un rôle causal.

Par ailleurs, les études conduites jusqu'ici sont, pour l'essentiel, des études cas-témoins, donc rétrospectives. Or, seules des enquêtes épidémiologiques longitudinales, ou prospectives, pourraient clarifier la séquence temporelle d'association entre *MAP* et MC et, peut-être, par là même, apporter, si une telle association était mise en évidence, des données sur le rôle propre de *MAP* (participation à l'initiation du processus ou association secondaire, active avec entretien du processus ou passive sans intervention).

3.1.3. Données physiopathologiques

La MC est une maladie dont la prédisposition génétique est complexe. Plusieurs gènes de prédisposition récemment identifiés et publiés ont un rôle dans la réponse immunitaire innée de l'hôte vis-à-vis des bactéries. Parmi ces gènes, on peut mentionner que NOD2 participe à la réponse immunitaire innée vis-à-vis de *Mycobacterium tuberculosis* (Ferwerda *et al.*, 2007). IRGM a été impliqué lui aussi dans les processus de dégradation des mycobactéries intracellulaires (Feng *et al.*, 2004). Enfin, la voie de l'IL23/IL12 dont plusieurs gènes ont été décrits mutés est, elle aussi, impliquée dans la réponse de l'hôte vis-à-vis de *Mycobacterium tuberculosis* (Altare *et al.*, 1998). Ainsi, il apparaît qu'un lien physiopathologique entre les mycobactéries et plusieurs gènes de susceptibilité à la MC ont été rapportés. Même si l'étude de la réponse vis-à-vis de *MAP* reste encore peu explorée, il est plausible qu'un lien puisse être établi dans l'avenir. Savoir là aussi, si ce lien est spécifique des mycobactéries n'est pas résolu mais semble peu probable. Les gènes de la MC sont impliqués dans la réponse vis-à-vis de nombreux autres agents infectieux tels que *Listeria*, *Yersinia* ou *Salmonella* par exemple.

Par ailleurs, un travail récent réalisé en Sardaigne ne montre pas de corrélation entre le portage de *MAP* et la présence de mutations du gène NOD2/CARD15 (Sechi *et al.*, 2005). De plus, les *MAP* (du moins l'*IS 900*) sont retrouvées plutôt plus fréquemment dans les formes coliques que dans les formes iléales et pas plus fréquemment dans les formes précoces et/ou fibrosantes. Ceci est en contradiction avec la forte association retrouvée entre la présence des mutations NOD2/CARD15 avec le génotype de forme iléale, de début précoce et à forme fibrosante.

Le gène NOD2 de susceptibilité à la MC a un rôle dans le maintien de l'homéostasie des plaques de Peyer, points d'entrée des *MAP* (et de nombreux autres agents infectieux) (Barreau *et al.*, 2007). Un déficit fonctionnel des plaques de Peyer pourrait ainsi favoriser l'invasion de la muqueuse intestinale par *MAP*.

3.1.4. Comparaison anatomo-clinique

La comparaison clinique et anatomopathologique (*cf.* tableau 8) entre la maladie de Johne et la MC montre qu'il s'agit dans les deux cas de maladies inflammatoires granulomateuses (granulome tuberculoïde) chroniques de l'iléon et du côlon, atteignant essentiellement des sujets adultes jeunes, entraînant un épaississement progressif de la paroi intestinale. Leurs signes cliniques sont dominés par la diarrhée et l'amaigrissement.

Cependant, il existe des différences: les granulomes ne sont retrouvés dans la MC que dans un tiers des cas environ; il existe souvent des ulcérations profondes avec des fistules intestinales; il existe au cours de la MC des manifestations extra-digestives, articulaires, cutanées, oculaires ainsi que des localisations anopérinéales dans un quart des cas.

Les deux maladies ont donc des points communs sans être strictement identiques. Dans l'hypothèse où les deux maladies auraient la même étiologie, il est cependant raisonnable d'envisager une certaine hétérogénéité inter-espèces quant à l'expression clinique de la maladie, comme cela est le cas chez les ruminants par exemple.

Tableau 8 : Comparaison entre la paratuberculose et la maladie de Crohn

	Paratuberculose	Maladie de Crohn
Âge moyen des signes cliniques	Jeunes adultes	Jeunes adultes
Altération de l'état général	Oui	Oui
Diarrhée	++/+++	++/+++
Douleurs abdominales	Absentes	Présentes
Présence de sang dans les selles	Non	Fréquente
Atteintes péri-anales	Absentes	Présentes : 20 à 30 %
Symptômes extra-intestinaux	Absents	Présents (articulaires, oculaires, cutanées) mais inconstants
Modalités évolutives	Généralement progressive Rémission possible en cours de gestation	Alternance de phases d'activité/ phases de rémission

3.1.5. Données épidémiologiques

Il existe indiscutablement des sources d'infection possible par *MAP* dans les cheptels laitiers qui sont infectés par cette bactérie, en Europe, en Amérique du Nord et en Australie. Par contre, il n'existe pas de données épidémiologiques démontrant une fréquence plus élevée de MC chez les enfants qui avaient été élevés à la ferme (Radon *et al.*, 2007), chez des adultes travaillant à la ferme ayant été en contact avec des ruminants atteints de paratuberculose avérée (Jones *et al.*, 2006) et enfin chez des adultes atteints de MC en fonction de leur consommation d'eau de boisson et de lait pasteurisé (Abubakar *et al.*, 2007). Cet argument négatif reste toutefois très relatif compte tenu du peu d'études publiées et de l'exposition probablement assez répandue à *MAP*, y compris en milieu urbain.

Malgré des données incomplètes sur l'épidémiologie de la paratuberculose animale dans les différents pays, il ne semble pas y avoir de corrélation entre les incidences de paratuberculose et de MC: par exemple, en Australie, la paratuberculose est inégalement répartie dans le pays alors que la MC y est répartie de manière homogène. En Suède, la paratuberculose est très rare alors que la MC est très fréquente. En Islande, où des programmes de maîtrise de la paratuberculose ont été menés, il ne semble pas y avoir eu de chute notable de l'incidence de la MC.

3.1.6. Données thérapeutiques

Longtemps, les résultats des essais avec les antibiotiques antituberculeux ont été contradictoires, en partie parce que les *MAP* sont insensibles aux antituberculeux traditionnels. L'effet des antibiotiques à activité intracellulaire (clarytromycine, azytromycine, rifamycine) n'avait été testé que dans des petits essais ouverts non contrôlés et leur effet pouvait n'être que non spécifique par modulation de la flore intestinale (clarytromycine par exemple).

Il n'y a pas de corrélation dans les quelques travaux où cela a été étudié, entre l'efficacité des antituberculeux et la présence d'*IS 900* dans les tissus et/ou la réponse sérologique avant et après traitement.

Plus récemment, un essai australien a comparé pendant deux ans chez 213 malades une association de clarytromycine 750 mg/j, rifabutine 450 mg/j et clofazimine 50 mg/ou placebo, associés à une cure initiale de corticoïdes pendant 16 semaines. Chez les patients traités par antituberculeux, le pourcentage de rémissions à 16 semaines était de 66 % environ contre 50 % sous placebo ($p=0,02$). Des 122 malades en rémission et inclus ensuite dans le traitement d'entretien, 39 % ont eu au moins une rechute entre les semaines, 16 et 52 contre 56 % sous placebo (NS) et 26 % contre 43 % à la semaine 104 (NS). D'autres paramètres cliniquement significatifs, tels le taux de CRP⁽⁶⁾ et le pourcentage de cicatrisation muqueuse en endoscopie, n'étaient pas différents dans les deux groupes. On peut conclure de ce grand essai qu'un traitement antituberculeux pendant deux ans n'apporte pas de bénéfice cliniquement significatif au traitement de la maladie de Crohn.

Le bénéfice à court terme sur les quatre premiers mois de traitement est probablement dû à un effet non spécifique des antibiotiques (Selby *et al.*, 2007).

Un argument clinique fort contre un rôle causal de *MAP* dans la MC est l'efficacité des corticoïdes et des immunosuppresseurs (azathioprine, méthotrexate) dans la MC, base du traitement de cette maladie et dont l'efficacité est établie, à court et long terme. Dans les rares cas publiés d'association de MC et d'infection par le HIV, la MC s'améliore parallèlement à la chute du taux de T lymphocytes CD4 alors que *Mycobacterium avium intracellulare* prolifère dans l'infection par le VIH.

D'autre part, les anticorps chimériques monoclonaux anti TNF (infliximab, adalimumab) améliorent (60 %) ou permettent une rémission (30-40 %) des cas de poussées de MC réfractaires alors que l'on sait que *Mycobacterium tuberculosis* peut proliférer sous ce traitement, entraînant un risque connu de reviviscence de tuberculose (en particulier extra-pulmonaire), maximum après les premières injections. Cet argument est à prendre cependant avec précaution car il n'est peut-être pas généralisable de *Mycobacterium tuberculosis* à *MAP* (Behr et Kapur, 2008).

3.1.7. Conclusion sur le rôle de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* dans la maladie de Crohn

La MC étant une maladie complexe, on peut considérer que seulement une faible fraction de la population, définie par sa prédisposition génétique, la développe quand elle est exposée à un ou plusieurs agents environnementaux encore mal connus. Cette prédisposition génétique apparaît cependant de plus en plus complexe et difficile à comprendre selon une pensée déterministe simple.

Il est donc particulièrement délicat de distinguer le rôle prédisposant, initiateur ou simplement aggravant d'un facteur environnemental donné.

Pour une grande majorité d'auteurs, ces agents environnementaux doivent être recherchés parmi les bactéries entrant en contact avec la muqueuse intestinale. Pour beaucoup, ces bactéries n'auraient rien de spécifique et il est illusoire de vouloir identifier un agent causal particulier. Il ne s'agirait que d'une réactivité anormale de l'hôte à sa flore endogène normale. Pour d'autres, un ou plusieurs agents infectieux peu virulents chez un individu normal, pourraient déclencher la maladie. Parmi ces agents, plusieurs candidats ont été étudiés et abandonnés (virus de la rougeole par exemple) ou sont encore à l'étude (*MAP*, *E. coli*, *Yersinia*, *Listeria*, etc.).

Pour chacun de ces agents, des arguments plaident en faveur de leur rôle (détection dans les lésions, réponse immunitaire anormale chez les malades, interaction entre la bactérie et les gènes de susceptibilité connus pour la MC, etc.). Toutefois, pour aucun d'entre eux, il n'existe une démonstration formelle de leur rôle causal dans la maladie. Ce rôle reste difficile à établir par essence puisque l'on ne recherche pas un agent pasteurien traditionnel (relation directe entre l'exposition et la maladie, et *vice-versa*). Enfin, il faut noter que ces hypothèses ne sont pas mutuellement exclusives.

(6) CRP = protéine C réactive.

MAP apparaît donc comme un des candidats les plus étudiés dans la MC. Il existe des arguments fortement en faveur du rôle de la bactérie (ex: la présence de MAP, ou de bactéries du complexe MAC, dans les lésions, la ressemblance anatomo-clinique de la MC avec la paratuberculose animale) et d'autres arguments fortement en défaveur (ex: l'inefficacité du traitement anti-MAP ou l'amélioration des lésions sous anti-TNF).

Le rôle de MAP reste donc encore l'objet d'un débat souvent passionné entre chercheurs. Ce débat nécessitera certainement de réunir des arguments supplémentaires en faveur ou en défaveur de MAP avant d'être tranché.

3.2. Exposition humaine à *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

3.2.1. Introduction

Comme il a été exposé précédemment, l'exposition de l'homme à MAP a été mise en cause dans l'évolution de la MC chez l'homme. Le lait pasteurisé a été suspecté d'être l'un des supports de cette exposition de l'homme à MAP. Cette section étudie les modalités de traitement thermique du lait et leurs conséquences sur la présence de MAP dans les produits laitiers ainsi traités.

3.2.2. Exposition humaine à *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* lors de la consommation de lait traité thermiquement

3.2.2.1. Destruction par la chaleur

MAP, comme d'autres mycobactéries, a une thermorésistance élevée. Après plusieurs années de controverse et de discussion sur les techniques expérimentales, les publications les plus récentes indiquent que le barème minimal recommandé par le Codex alimentarius pour la pasteurisation du lait, soit 15 secondes à 72 °C, divise en général par $\geq 10^6$ les populations de cellules viables de MAP, mais parfois par seulement 10^4 ou même 10^3 (Pearce *et al.*, 2001; Stabel et Lambertz, 2004; Grant *et al.*, 2005; McDonald *et al.*, 2005).

En France, près de 93 % du lait de consommation est vendu après traitement UHT et 4 % est stérilisé en bouteille. Les 3 % restant sont vendus après pasteurisation, pratiquée généralement à une température supérieure à 72 °C. La consommation de lait cru représente une fraction minimale et difficilement estimable. À l'exception de quelques beurres et fromages, les produits laitiers sont fabriqués avec du lait pasteurisé.

La destruction de MAP par le traitement UHT (stérilisation en écoulement continu pendant quelques secondes à plus de 135 °C, « ultra haute température ») n'est pas mise en cause. En effet, la vitesse de destruction de MAP par la chaleur est multipliée par dix tous les 7 °C environ : la vitesse de destruction dans un appareil UHT sera au moins multipliée par 10^9 . La stérilisation du lait en bouteille a un effet destructeur encore plus grand.

3.2.2.2. Effet de la pasteurisation sur l'exposition du consommateur

Une étude par simulation de Monte-Carlo permet d'apprécier l'effet de la pasteurisation sur un lait contaminé par MAP. Ses résultats seront confrontés à ceux obtenus en laboratoire sur des laits traités. Pour l'étude de simulation, les valeurs suivantes sont choisies pour calculer l'effet d'une pasteurisation industrielle sur les cellules de MAP dans le lait de mélange de 35 élevages :

- pour la prévalence des troupeaux infectés : 25 % et pour la prévalence individuelle dans les troupeaux infectés : 4 % (Boelaert *et al.*, 2000; Jakobsen *et al.*, 2000; Muskens *et al.*, 2000; Nielsen *et al.*, 2000; Wells et Wagner, 2000; Dargatz *et al.*, 2001; Manning et Collins, 2001; Vanleeuwen *et al.*, 2001; Corti et Stephan, 2002; Wells *et al.*, 2002; Hill *et al.*, 2003; Sorensen *et al.*, 2003; Van Schaik *et al.*, 2003; Hacker *et al.*, 2004; Hirst *et al.*, 2004; Jubb et Galvin, 2004; Kasravi et Nowrouzian, 2004; Tavorpanich *et al.*, 2004; Roussel *et al.*, 2005, Douart, 2002);
- l'hypothèse suivante, est faite : tous les animaux infectés excrètent MAP dans leurs fèces;
- pour la concentration des cellules de MAP dans le lait cru : 1 à 10^6 ufc/mL dans le lait des animaux infectés avec un mode à 1,1 ufc/mL (Giese et Ahrens, 2000; Waldner *et al.*, 2002; Stabel *et al.*, 2001). Ceci correspond à une concentration moyenne de 10 ufc/mL;
- pour l'efficacité de la pasteurisation industrielle : entre trois et quatre réductions décimales dans 5 % des cas, entre 4 et 6 dans 10 % des cas et entre 6 et 12 dans 85 % des cas (Stabel et Lambertz, 2004; Grant *et al.*, 2005; McDonald *et al.*, 2005).

Les calculs sont faits par simulation de Monte Carlo avec 10 000 itérations (logiciel @Risk 4.5.4, Palisade Corporation, Ithaca, NY). Les résultats montrent que la probabilité de retrouver des cellules viables de *MAP* après pasteurisation, dans des prises d'essai de 50 mL, est de l'ordre de 0,02 %. Une étude récente, incorporant une fourchette plus large de prévalence individuelle et des troupeaux, parvient à des conclusions similaires (Cerf *et al.*, 2007). Ceci est confirmé par des données provenant du Canada et de la République d'Irlande (Gao *et al.*, 2002; O'Reilly *et al.*, 2004). Pourtant, des données provenant de plusieurs pays (États-Unis d'Amérique, Royaume-Uni, République tchèque) font état de la présence de cellules viables de *MAP* dans 1 à 3 % des laits pasteurisés trouvés dans le commerce (Grant *et al.*, 2002; Ayele *et al.*, 2005; Ellingson *et al.*, 2005).

Il y a donc contradiction entre les études de simulation, certains résultats obtenus au laboratoire, d'une part, et les données issues de pays faisant état de la présence de cellules viables de *MAP* dans une faible proportion de laits pasteurisés, d'autre part. Parmi les hypothèses explicatives qui ont été proposées, voici celles qui paraissent peu probables :

- 1) **Les cellules seraient sous forme d'amas :** ceci est invoqué parce que certains auteurs ont observé des courbes de survie comportant une traînée (Klijn *et al.*, 2001). Cette hypothèse ne peut plus être soutenue car les amas de cellules de *MAP* dans le lait contiendraient au plus 10 cellules. En outre, ces amas sont vraisemblablement rompus par le traitement d'homogénéisation à haute pression qui est systématiquement pratiqué dans l'industrie pour réduire la taille des globules gras afin d'empêcher la remontée de la crème et son oxydation pendant la conservation du lait;
- 2) **Une activation par la chaleur :** il a été observé récemment par une équipe belge que des traitements thermiques d'au moins 10 min à au moins 80 °C permettent de mettre en évidence plus de cultures positives (Herman *et al.*, 2005). Ces résultats ont beaucoup surpris et ne sont toujours pas compris. L'intensité des chauffages pratiqués pour cette expérimentation était largement supérieure à celle des 15 secondes à 72 °C de la pasteurisation industrielle. Ce type d'activation pendant la pasteurisation paraît peu probable;
- 3) **Le lait cru contiendrait une concentration massive de cellules de *MAP* :** cette hypothèse est peu vraisemblable pour des mélanges de laits provenant de plusieurs élevages. En effet, pour que le pourcentage de prises d'essai positives soit de l'ordre de 3 %, il faudrait :
 - soit, si le lait est contaminé comme dans l'exemple ci-dessus, y ajouter 10 kg de fèces ayant une concentration comprise entre 10^6 et 10^9 ufc/g (mode 10^7 ufc/g),
 - soit imaginer (par exemple) que la distribution de la concentration dans le lait cru va de 0 à 10^8 par mL avec un mode de 100 ufc/mL.

Les trois hypothèses suivantes permettent donc le plus probablement d'expliquer les résultats divergents constatés :

- 1) le barème réellement appliqué pendant la durée totale de fonctionnement des installations industrielles est inférieur au barème pour lequel le pasteurisateur est réglé. Ceci est possible quand la durée de fonctionnement entre deux nettoyages est trop longue. En effet, l'encrassement des surfaces chauffées a deux effets : (i) réduire la température : en principe des dispositifs d'alarme évitent cela ; (ii) réduire le diamètre hydraulique, donc augmenter la vitesse d'écoulement et corrélativement diminuer la durée du traitement thermique effectif : très peu d'appareils disposent de moyen de surveillance de ce problème ;
- 2) le lait pasteurisé est recontaminé dans la section de refroidissement des pasteurisateurs où des fuites peuvent mettre en communication le flux montant du lait cru avec le flux descendant du lait pasteurisé ;
- 3) les résultats sont des faux positifs explicables par des recontaminations dans les laboratoires d'analyses, qui sont hautement spécialisés dans l'étude de *MAP*. Or, il a été démontré que, dans les laboratoires de microbiologie consacrés à l'étude d'une espèce microbienne unique, les contaminations croisées sont constatées avec cette espèce (Gascoyne-Binzi *et al.*, 2001; Mendez *et al.*, 2006). Toutefois les laboratoires en cause déclarent prendre toutes les mesures connues contre une telle dérive.

3.2.3. Conclusion sur l'exposition de l'Homme

Une pasteurisation industrielle correctement conduite assure une destruction efficace des cellules de *MAP* dans les conditions les plus vraisemblables de contamination. Il en est de même pour tout traitement thermique, qu'il soit un traitement UHT ou une stérilisation.

Le fait de trouver des cellules viables dans le lait après pasteurisation semble devoir être attribué soit à un défaut de fonctionnement des pasteurisateurs, soit à des faux-positifs dus à des contaminations croisées lors de l'analyse. Ainsi, même dans les conditions très pessimistes utilisées dans le modèle au point 3.2.2, le lait pasteurisé ne constitue pas une source d'exposition humaine significative.

4.1. Concernant la santé animale

4.1.1. Sur l'épidémiologie

*D'une manière générale, et la France ne fait pas exception, les informations **d'épidémiologique descriptive** concernant la paratuberculose restent très parcellaires, voire quasiment absentes pour certaines espèces (petits ruminants notamment). La présence de cette affection dans notre pays n'est pas discutable. Elle concerne l'ensemble du territoire, à des degrés variables selon les régions mais la prévalence et l'incidence restent inconnues. Les raisons de cette méconnaissance sont nombreuses mais elles tiennent en grande partie aux particularités de l'infection paratuberculeuse et notamment aux difficultés d'identification des stades pré-cliniques. Des enquêtes sont réalisées à l'échelon local impliquant parfois des moyens financiers non négligeables, mais les résultats sont généralement peu exploitables, principalement en raison de la méthodologie retenue (échantillonnage, test utilisé).*

Il est donc recommandé :

- de concevoir un guide méthodologique de réalisation d'enquêtes épidémiologiques tenant compte des spécificités de l'infection paratuberculeuse et de la qualité des outils de laboratoire ;
- de prévoir un traitement cohérent des données afin d'améliorer les connaissances sur cette affection au plan national, condition d'une meilleure définition des stratégies de lutte ;
- de poursuivre la réflexion sur l'opportunité de l'inscription de la paratuberculose sur la liste des maladies à déclaration obligatoire (MADO).

***Dans le domaine de l'épidémiologie analytique**, nos connaissances sont également limitées et un certain nombre d'entre elles relèvent plus de l'on-dit que de la démonstration scientifique. Certaines données sont anciennes et reposent sur des travaux dont la méthodologie est parfois très discutable.*

Sont ainsi méconnus ou inconnus et devraient donc faire l'objet d'un effort de recherche :

- les facteurs conditionnant la dynamique de l'infection en intra et en inter-troupeau et l'importance relative de certaines modalités de transmission au jeune (par exemple materno-fœtale ou par distribution de lait de tank) ;
- la résistance de l'agent dans le milieu extérieur et l'action des désinfectants ou de certains traitements des fumiers (exemple : compostage) ;
- les facteurs intrinsèques (tenant à l'animal) ou extrinsèques susceptibles de moduler l'évolution de l'infection paratuberculeuse chez un individu (orientation vers la résolution ou vers la phase clinique, stabilisation à différents stades évolutifs).

Le groupe recommande donc la réalisation d'études :

- dans le domaine de l'épidémiologie moléculaire afin de permettre le suivi des contaminations inter-troupeaux et inter-spécifiques (y compris avec la faune sauvage) et l'analyse des résurgences dans les troupeaux considérés comme assainis ;
- sur l'efficacité des désinfectants et des modalités d'assainissement du fumier et du lisier ;
- sur l'identification des facteurs de réceptivité et de sensibilité, en particulier d'ordre génétique. Dans les années à venir, la maîtrise de la paratuberculose ne pourra probablement pas se faire sans intégrer la notion de sélection génétique. Cette approche passe par une meilleure compréhension des interactions entre *M. paratuberculosis* et l'organisme hôte ;
- sur la réalité et l'impact de la transmission materno-fœtale (ou verticale) et par la distribution de lait de tank.

4.1.2. Sur le diagnostic et le dépistage individuel et de troupeau

Le diagnostic d'un animal atteint de paratuberculose clinique ne présente pas de difficulté particulière avec les outils existants. L'identification des animaux infectés asymptomatiques, excréteurs ou non, s'avère néanmoins plus délicate, notamment pour les stades précoces.

Les outils de dépistage n'ont pas véritablement connu de développements spectaculaires depuis de nombreuses années. Quelles que soient les espèces concernées et quels que soient les objectifs visés (assainissement des cheptels ou certification), les tests de laboratoire habituellement employés sont la culture fécale, la sérologie (ELISA) et la PCR.

Les principaux problèmes identifiés sont :

- une méconnaissance des réelles performances, tant au niveau de l'animal que du cheptel, des techniques de laboratoire, due en partie :
 - à des travaux reposant sur la comparaison de tests explorant des phénomènes non synchrones dans l'évolution de l'infection,
 - au choix fréquent de la coproculture comme « gold standard » alors que sa sensibilité est estimée à 50 %,
 - à l'absence d'études permettant d'estimer la valeur prospective des tests (probabilité que l'animal dépisté évolue vers la phase clinique) ;
- une relative diversité des outils de laboratoire disponibles : tests sérologiques immunoenzymatiques reposant sur des conceptions différentes (nature de l'antigène, présence ou absence d'une phase de pré-absorption), culture fécale réalisée sur différents milieux commercialisés pré-coulés ou fabriqués au laboratoire, PCR point final (ou conventionnelle) ou temps réel commercialisé ou mises au point « maison » ;
- l'absence de prise en compte des particularités de l'infection paratuberculeuse, qui conduit notamment dans les opérations de dépistage, à la mise en place de procédures de confirmation d'un résultat d'un test sérologique par une technique de diagnostic direct (PCR ou culture fécale), avec à la clé des difficultés d'interprétation ;
- l'apport minime en détectabilité apporté par les tests de biologie moléculaire (PCR) par rapport à la coproculture ;
- l'absence quasi-totale de données sur les techniques employables chez les ovins ;
- la présence de la séquence d'insertion *IS 900*, support de toutes les PCR actuellement utilisées, chez d'autres mycobactéries que *MAP* ;
- le coût élevé de tests de laboratoire par rapport à la valeur marchande de l'animal, notamment pour certaines espèces (petits ruminants), ce qui conduit souvent à renoncer à une démarche d'assainissement ;
- la nécessité de préciser les performances (sensibilité, spécificité et valeurs prédictives) au niveau du troupeau des différentes techniques de dépistage disponibles. La réflexion devra tenir compte de l'adéquation entre, d'une part, les objectifs poursuivis dans le dépistage (par exemple, acquisition et maintien de qualification, lutte contre la clinique) et, d'autre part, le choix et l'utilisation combinée ou séquentielle des différents outils.

Le groupe de travail recommande donc :

- la désignation d'un laboratoire de référence et la définition de ses missions ;
- une standardisation des techniques reposant sur la définition d'un sérum étalon et sur une démarche d'évaluation de tous les milieux de culture fécale et les PCR utilisés en France ;
- la mise en œuvre d'études visant à améliorer sensiblement la détectabilité des tests d'exploration de l'excrétion (culture ou PCR) ;
- l'évaluation des techniques disponibles appliquées sur de nouvelles matrices (lait ou prélèvement de l'environnement – lisier et fumier –), ainsi que la possibilité de réalisation de tests sur des mélanges (sérums, fèces ou lait de tank) dans la perspective d'une utilisation dans le cadre du dépistage ou de la certification de troupeaux chez toutes les espèces y compris les ovins ;
- la mise au point de tests PCR reposant sur d'autres cibles que l'*IS 900* afin de disposer de méthodes de confirmation lors de résultat apparemment incohérent.

4.1.3. Sur les plans de lutte

La France, comme de nombreux pays, a mis en place depuis plus de 25 ans des plans de maîtrise de la paratuberculose clinique chez les bovins. Ils reposent principalement sur la détection et l'élimination des excréteurs et sur l'amélioration de la conduite du troupeau en vue de diminuer les risques de contamination des jeunes générations. Ces actions concernent essentiellement les élevages bovins et sont plutôt adaptées à la filière laitière. Les résultats obtenus sont globalement satisfaisants, avec une disparition rapide des cas cliniques (un à deux ans) et des animaux excréteurs en quatre à cinq ans en élevage laitier et en six à sept ans en élevage allaitant. L'engagement dans ces plans est une démarche volontaire de la part de l'éleveur qui reçoit dans la majorité des cas des aides financières de la part des GDS.

Le groupe de travail a constaté toutefois :

- un nombre relativement constant de plans en cours, même dans les départements pratiquant cette démarche depuis de très nombreuses années, ce qui semble indiquer un impact relativement limité de ces actions sur la prévalence globale de la maladie et de l'infection ;
- la difficulté d'obtention de données précises sur les taux de réussite et d'échec de ces actions et leur rapport coût/bénéfice ;
- l'absence de plans similaires chez les petits ruminants, ce qui n'exclut pas l'existence probable d'actions ponctuelles et locales, mais dont les bases et les effets ne font l'objet d'aucune communication.

Il recommande :

- la mise en place d'un suivi systématique des cheptels après leur sortie de plan de lutte, afin d'établir de façon plus précise les taux d'échec, d'en identifier les causes pour mieux maîtriser les risques de résurgence (suivi de la pression d'infection par sérologie du troupeau, évaluation des charges environnementales en MAP) ;
- l'établissement de protocole(s) d'action pour les cheptels infectés sans clinique, tenant compte des objectifs de ces exploitations (certification, prévention du risque de paratuberculose maladie, etc.) et économiquement acceptable(s) ;
- le développement d'outils d'épidémiologie moléculaire pour faciliter l'analyse des causes d'échec.

4.1.4. Sur la vaccination

La vaccination a longtemps constitué la pierre angulaire de la lutte contre la paratuberculose en France, car c'est un outil efficace pour la maîtrise de la paratuberculose clinique bovine et pour la réduction de la pression d'infection en diminuant le niveau d'excrétion fécale. Toutefois, elle ne permet pas de rompre totalement le cycle de l'infection, ni d'aboutir à un assainissement bactériologique de l'élevage. Son emploi constitue également un handicap non négligeable pour la commercialisation des animaux, en créant des interférences avec le dépistage de la tuberculose et de la paratuberculose. La vaccination présente un intérêt pour les élevages de type allaitant, dans lesquels les contacts entre les adultes infectés et les jeunes réceptifs sont particulièrement importants et difficilement évitables.

Le principal problème identifié par le groupe de travail est l'impossibilité de recourir à la vaccination en France. Depuis l'arrêt de la commercialisation en 2001 du seul vaccin contre la paratuberculose possédant une AMM dans notre pays, aucune nouvelle demande d'AMM n'a été déposée pour un autre vaccin et aucune ATU (autorisation temporaire d'utilisation) n'a pu être acceptée. Pourtant, il existe des sollicitations répétées des organismes professionnels agricoles et vétérinaires. Les membres du groupe soulignent les graves difficultés économiques rencontrées par l'élevage ovin et caprin et certains élevages bovins allaitants connaissant une forte incidence de la maladie. L'application de mesures purement sanitaires dans ce type de situation est totalement illusoire et la vaccination reste la seule solution envisageable pour permettre à ces exploitations de perdurer. Un certain nombre de travaux apportent désormais les preuves de l'efficacité de la prophylaxie médicale de la paratuberculose, notamment chez les ovins, même si celle-ci ne peut être comparée à ce qui est constaté habituellement avec les autres maladies infectieuses (disparition totale des cas cliniques).

Le groupe de travail recommande :

- la mise à disposition d'un outil vaccinal adapté contre la paratuberculose en France :
 - en tenant compte des particularités de cette maladie pour fixer les niveaux d'exigence en termes d'efficacité,
 - en exigeant une connaissance précise sur les éventuelles interférences de la vaccination avec les tests de diagnostic/dépistage de la tuberculose et de la paratuberculose ;
- de mener une réflexion :
 - sur un encadrement strict de la pratique vaccinale afin d'en limiter son emploi aux seuls élevages dans l'incapacité zootechnique de mettre en place les mesures sanitaires préconisées dans le plan de lutte national contre la paratuberculose clinique,
 - sur les modalités d'information des éleveurs sur toutes les conséquences de l'emploi de cette vaccination (maintien de l'infection, commercialisation des animaux),
 - sur la traçabilité individuelle de la vaccination et la disponibilité de cette information.

4.1.5. Sur la certification des cheptels

Sur ce plan, la France n'est pas en retard par rapport à la plupart de ses voisins européens. La certification repose sur un référentiel technique national. Toutefois, l'application de ce référentiel national n'est pas harmonisée, faute de cahier des charges validé. L'objectif est avant tout de sécuriser les échanges entre éleveurs et de permettre l'accès aux filières de sélection et à l'exportation. La démarche est volontaire, repose sur des résultats d'analyses effectuées sur une partie du cheptel et est gérée à l'échelle locale par le Groupement de défense sanitaire. Le nombre de cheptels engagés reste toutefois limité pour des raisons essentiellement économiques (rapport coût/bénéfice). Les cheptels certifiés ne sont pas considérés comme indemnes mais comme présentant un risque d'infection très limité. En effet, les performances des outils de dépistage ne permettent pas de garantir l'absence de l'infection paratuberculeuse.

Les principaux problèmes identifiés sont les suivants :

- l'absence de cahier des charges validé et de procédures de contrôle d'application du référentiel ;
- l'absence de bilan sur le fonctionnement de cette certification : nombre de bovins certifiés ayant développé une paratuberculose ou à l'origine probable de l'introduction de la maladie dans un cheptel (démarche peut être trop récente pour obtenir ce type d'information), nombre de procédures de contre-expertise et résultats ;
- l'absence de prise en compte dans les cheptels mixtes des autres espèces sensibles, notamment les caprins dont les souches de *MAP* sont susceptibles d'infecter les bovins ;
- un référentiel qui ne concerne que les bovins.

Le groupe de travail recommande :

- la rédaction d'un cahier des charges harmonisé pour la certification, incluant le contrôle par une tierce partie ;
- l'intégration des bonnes pratiques de conduite d'élevage dans la certification des cheptels afin de promouvoir la prévention sanitaire, et de tenir compte des limites des tests de dépistage ;
- la programmation d'une remise à niveau régulière du référentiel tenant compte de l'évolution des connaissances épidémiologiques, de l'amélioration des méthodes de laboratoire et prenant en compte ses difficultés d'application sur le terrain ;
- la mention sur le certificat de garantie de l'ancienneté de la démarche de certification entreprise dans le cheptel, la valeur prédictive négative des résultats d'analyse étant proportionnelle au nombre de contrôles annuels effectués ;
- l'étude de l'opportunité d'un référentiel pour les petits ruminants.

4.2. Concernant la santé humaine

Pour enfin répondre définitivement à la question récurrente du rôle de *MAP* dans la MC depuis la description de cette maladie, il faudrait répondre aux questions suivantes :

- savoir si l'éradication sélective de *MAP* dans un sous-groupe de malades porteurs d'*IS 900* modifie l'évolution de la MC ;
- élucider le mécanisme de la réponse immunitaire cellulaire à cette bactérie chez des malades atteints de MC et chez les témoins ;
- déterminer si NOD2/CARD15 et d'autres voies de signalisation microbienne régulent l'infection intracellulaire et la clairance de *MAP* ;
- évaluer l'ampleur de l'infection par *MAP* en mettant sur pied des études multicentriques de recherche de *MAP* par différentes techniques de biologie moléculaire et par culture, incluant un grand nombre de malades ;
- établir un lien temporel entre l'exposition à *MAP* et la MC ;
- évaluer la charge bactérienne en fonction de l'intensité des lésions et de l'état clinique et corrélérer la réponse au traitement avec la diminution de la charge bactérienne.

Malgré les similitudes anatomocliniques existantes entre paratuberculose et MC et les associations rapportées entre *MAP* et MC, le lien de causalité formelle entre *MAP* et MC demeure à ce jour non démontré. L'ensemble des connaissances disponibles permettent d'écarter un lien de causalité de type pasteurien, où *MAP* serait la condition nécessaire et suffisante pour entraîner la MC, celle-ci paraissant être le résultat de la conjonction de différents facteurs, les uns propres à l'homme, les autres à son environnement. Le rôle que peut jouer *MAP* ou d'autres bactéries exogènes (*Listeria*, *Yersinia*, certaines souches d'*E. coli*, etc.) en interaction avec la flore endogène ne peut être apprécié, compte tenu de la diversité des interactions et mécanismes proposés par les différentes équipes sans qu'un schéma univoque puisse être dégagé.

Toute information supplémentaire sur *MAP* permettant d'apprécier définitivement son rôle dans la MC devrait conduire :

- i. si *MAP* était formellement impliqué dans le développement de la maladie de Crohn :
 - à réduire autant que possible les sources d'infection de *MAP* (les traitements thermiques du lait pour la consommation humaine, notamment la pasteurisation, contribuant à cette réduction);
 - à déterminer les moyens de la détecter et de la traiter (par antibiotiques ou par immuno-stimulants) chez l'homme, ce qui mobiliserait le système de santé publique;
- ii. si *MAP* était formellement exclu de toute participation au développement de la MC : à abandonner définitivement cette voie de recherche et ne plus y consacrer de moyens qui pourraient être utilisés pour explorer d'autres hypothèses plus fécondes.

Néanmoins, compte tenu de l'importance de la paratuberculose chez les ruminants domestiques et des incertitudes persistantes quant au rôle de la flore microbienne intestinale, endogène ou exogène, chez l'homme dans l'interaction complexe entre gènes de susceptibilité et facteurs environnementaux, il paraît tout à fait indiqué de promouvoir la lutte contre la maladie animale en s'intéressant dans un premier temps à la paratuberculose cliniquement exprimée dans les trois espèces de ruminants domestiques. Cette lutte permettrait de maîtriser l'essentiel des pertes liées à la maladie en élevage, mais aussi de diminuer significativement le niveau de contamination par *MAP* de l'environnement des élevages et des produits qui en sont issus.

Annexe 1: La décision de la création du groupe de travail « Paratuberculose des ruminants »

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS

Décision n°2005/09/389 relative au groupe de travail « Paratuberculose des ruminants »

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,
Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L. 1323-1 et R. 1323-22 ;
Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu la décision du 17 juillet 2003 établissant une liste d'experts auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 3 septembre 2003 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 15 octobre 2003 modifiant l'arrêté du 3 septembre 2003 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 18 août 2004 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

DECIDE :

Article premier. Il est créé sur proposition du Comité d'experts spécialisé Santé animale lors de la réunion du 12 avril 2005 un groupe de travail dénommé « Paratuberculose des ruminants ; propositions de contrôle après évaluation du risque en santé animale et en santé publique », chargé de :

1. Elaborer un bilan des connaissances disponibles sur la paratuberculose des ruminants et son agent.
2. Recenser les actions développées pour le contrôle de la maladie animale depuis le début des années 90 en France et en Europe, notamment en identifiant celles qui ont fait l'objet d'une évaluation coût/bénéfice ainsi que celles où les outils de surveillance et de contrôle ont pu être évalués.
3. Identifier les efforts de recherche nécessaires à la création d'outils et de méthodes permettant d'améliorer la détection et le contrôle de l'affection animale.
4. Analyser les modalités de réduction de l'exposition humaine, notamment au travers du lait, de la production à la consommation, en fonction des principales hypothèses concernant le risque induit chez l'homme.
5. Proposer un ou plusieurs scénarios de contrôle de l'affection tenant compte des points 3 et 4 précédents.

Article 2. Le groupe de travail mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

- Membres du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » :
Mme Barbara Dufour ENVA
M. Bertrand Farcuit Vétérinaire praticien
M. Bruno Garin-Bastuji Afssa LERPAZ
M. Jean Guillotin LVD Nord
Mme Arlette Laval ENVN
M. Yves Millemann ENVA
M. Marc Savy Afssa siège

- Membres du Comité d'experts spécialisé « Microbiologie » :

M. Olivier Cerf ENVA

- Autres experts :

M. Antoine Cortot CHRU Hôpital Huriez Lille
M. Jean-Pierre Hugot INSERM Hôpital R. Debré Paris
Mme Karine Laroucau-Huel Afssa LERPAZ
M. François Schelcher ENVT
Mme Jacqueline Vialard ENVL
Mme Véronique Vincent Institut Pasteur

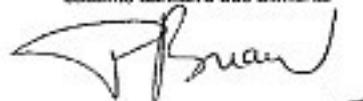
Article 3. M. Marc Savey est nommé président du groupe de travail mentionné à l'article premier.

Article 4. Les conclusions du groupe de travail seront présentées aux Comités d'experts spécialisés « Santé animale » et « Microbiologie » dans un délai de neuf mois.

Article 5. Le secrétariat du groupe de travail mentionné à l'article premier est assuré par le secrétariat du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Fait à Maisons-Alfort, le **26 SEP. 2005**

La Directrice générale de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments



—Pascale Briand

AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

**Décision modificatrice n°2007/02/95
relative au groupe de travail « Paratuberculose des ruminants »**

La directrice générale de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,
Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.1323-22 ;
Vu l'arrêté du 4 août 2006 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 17 octobre 2006 modifié relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 27 décembre 2006 modifiant l'arrêté du 17 octobre 2006 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu les décisions du 27 octobre 2006 et du 19 janvier 2007 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,
Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

DECIDE :

Article premier. La date de présentation des conclusions du groupe de travail « Paratuberculose des ruminants » aux Comités d'experts spécialisés « Santé animale » et « Microbiologie » institués par la décision n°2006/09/389 du 26 septembre 2006 est reportée au plus tard au 31 décembre 2007.

Article 2. La présente décision sera publiée au *Bulletin officiel* de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Fait à Maisons-Alfort, le 12 FEV. 2007

La directrice générale
de l'Agence française de sécurité sanitaire des
aliments



Pascale BRIAND

Annexe 2 : Principales publications portant sur les pertes économiques résultant d'une infection paratuberculeuse en élevage

Auteurs	Caractéristiques de l'échantillon	Résultats
Merkal <i>et al.</i> , 1975	Suivi d'un cheptel de 900/950 bovins Dépistage par culture fécale (CF)	Causes de réforme des CF positives : 30 % pour paratuberculose clinique 37 % pour infertilité, 16 % pour mammite, reste : diverses affections
Buergelt et Duncan, 1978	15 non infectés 14 signes cliniques 22 asymptomatiques	Chute de 7,8 % sur production lactée chez bovin subclinique Chute de 15,9 % surproduction lactée chez bovin à clinique Diminution de l'âge de réforme de 7,7 ans à 4,3 ans
Abbas <i>et al.</i> , 1983	Californie. 26 asymptomatiques - 52 indemnes	14,7 % de chute de production sur la dernière lactation Augmentation de l'intervalle vêlage - vêlage de 1,7 mois
Whipple, 1991	Wisconsin - cheptels laitiers Prévalence 11 %	Estimation de la perte de production de 7,8 % (sans précision sur catégorie)
Whitlock <i>et al.</i> , 1985	88 asymptomatiques 1136 indemnes	Chute de production de 25 % chez les asymptomatiques Environ 60 Kg de carcasse en moins entre les CF positives et CF négatives.
Benedictus <i>et al.</i> , 1987	Cas cliniques (61)	Chute de 14,5 % de la production durant la lactation précédant l'abattage - Perte de la valeur de la carcasse estimée à 20 %
McNab <i>et al.</i> , 1991	3 cheptels laitiers Ohio	Diminution de la production chez les CF positives Aucune différence entre les ELISA positifs et les ELISA négatifs.
Hutchinson, 1996	Vaches suivies par CF	Baisse de 5,5 Kg/j durant la lactation précédant l'abattage pour CF positives. Chute de production de 20 % pour les vaches en phase clinique
Mougel, 1989	France - Département 22 Comparaison avec les chiffres de la lactation précédente	Chute de production de 5 % chez les coprocultures positives Chute de production de 10 à 12 % chez les Ziehl positifs Pertes économiques estimées à 7 500 F/animal clinique
De Lisle et Milestone, 1989	6 cheptels laitiers Nouvelle-Zélande	Jusqu'à 17 % de production en moins dans les cheptels fortement touchés entre les CF positives et les CF négatives. Pas d'impact noté sur la fertilité et sur le taux de mammite
McNab <i>et al.</i> , 1991	304 cheptels - Animaux en phase subclinique Suivi par tests ELISA LAM	Pas d'impact sur l'intervalle vêlage - vêlage Corrélation ELISA positifs et taux cellulaire élevé Impact sur la production laitière jugé très variable selon les élevages
Collins et Morgan, 1991	9 cheptels à production moyenne de 8 500 Kg 43 bovins séropositifs ELISA	6 % de chute de production chez les bovins ELISA positifs Perte estimée de 250 \$ par vache séropositive - Effet sur TP et MG. Conséquences vraiment perceptibles sur bovins à partir de la 3 ^e lactation.

Auteurs	Caractéristiques de l'échantillon	Résultats
Wilson <i>et al.</i> , 1993	Suivi 12 mois - 180 vaches négatives - 113 subcliniques	Baisse de production Moindre taux de mammites (aigues et chroniques) chez les vaches non cliniques
Nordlund <i>et al.</i> , 1996	23 cheptels - 1 653 bovins - 147 positifs en ELISA	Chute de production laitière de 376 Kg (= 4 %) chez les ELISA positifs par rapport aux négatifs, sur la dernière lactation Pas de différence significative sur qualité du lait (TP, MG et Cellules)
Ott <i>et al.</i> , 1999	Cheptels présentant des cas cliniques (10 %)	Chute de production 700 kg en moyenne- Augmentation du taux de réforme Pertes estimées à 200 \$ par vache.
DEFRA, 2000		Pertes en cheptel allaitant évaluées à 16 £ par vache et par an Pertes en cheptel laitier évaluées à 26 £ par vache et par an
Johnson <i>et al.</i> , 2001	Suivi durant 18 mois - bovins de plus de 24 mois testés par ELISA et CF - Troupeaux infectés (CF positives) - Bovins suivis = subcliniques	Aucune incidence sur la production, le taux de matières grasses et de matière protéique
Kudahl <i>et al.</i> , 2004	6 955 Vaches - 108 cheptels - ELISA	Baisse de production comprise entre 3,7 kg/j et 2,7 kg/j selon le numéro de lactation (impact > en 1 ^{re} lactation)
Tiwari <i>et al.</i> , 2005	134 cheptels - Suivi de 30 bovins par cheptel Séropositivité ELISA	Risque multiplié par 1,38 de réforme chez les séropositives Augmentation (1,55) du risque de réforme pour baisse de production laitière ou infertilité
Lombard <i>et al.</i> , 2005	7 879 vaches laitières - 38 troupeaux - 16 États des États-Unis d'Amérique Sérologie ELISA	Vaches à ELISA fortement positives : baisse de la production, baisse de la durée de la lactation, mais pas d'incidence sur le taux de matières grasses, sur le taux protéique et sur le taux cellulaire
Beaudeau <i>et al.</i> , 2007	23 219 Vaches - 569 troupeaux Comparaison avec la production de cheptels attestés indemnes	Baisse de 2,5 Kg/j pour une vache ELISA positive Baisse de 2,1 Kg/j pour une vache PCR ou coproculture positive Baisse de 6,2 Kg/j pour une vache Ziehl positive Baisse de 1,6 Kg/j sur les vaches « négatives » d'un troupeau infecté RQ: baisse de 1,0 Kg/j sur les vaches « négatives » d'un troupeau négatif mais non attesté indemne.

CF: culture fécale.

MG: taux de matière grasse du lait.

TP: taux protéique du lait.

- Abbas, B., Riemann, H. et Hird, D. (1983).** *Diagnosis of Johne's disease (paratuberculosis) in northern California cattle and a note on its economic significance.* Californian Veterinarian, **8**, 20-24.
- Abubakar, I., Myhill, D.J., Hart, A.R., Lake, I.R., Harvey, I., Rhodes, J.M., Robinson, R., Lobo, A.J., Probert, C.S.J. et Hunter, P.R. (2007).** *A case-control study of drinking water and dairy products in Crohn's disease - Further investigation of the possible role of Mycobacterium avium paratuberculosis.* American Journal of Epidemiology, **165** (7), 776-783.
- ACERSA (2002).** *Rapport du groupe de travail relatif à la certification en paratuberculose bovine.* [http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/75564e50dco540c6c1256b37005d83ec/\\$FILE/ACERSA % 20rapport % 20paratuberculose.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/75564e50dco540c6c1256b37005d83ec/$FILE/ACERSA%20rapport%20paratuberculose.pdf)
- Ahmad, T., Tamboli, C.P., Jewell, D. et Colombel, J.-F. (2004).** *Clinical relevance of advances in genetics and pharmacogenetics of IBD.* Gastroenterology, **126** (6), 1533-1549.
- Alcaïs, A., Mira, M., Casanova, J.-L., Schurr, E. et Abel, L. (2005).** *Genetic dissection of immunity in leprosy.* Current Opinion in Immunology, **17** (1), 44-48.
- Allen, W.M., Berrett, S. et Patterson, D.S.P. (1974a).** *A biochemical study of experimental Johne's disease. II. An in vitro study of L histidine uptake by sheep intestinal mucosa.* Journal of Comparative Pathology, **84** (3), 385-389.
- Allen, W.M., Patterson, D.S.P. et Slater, T.F. (1974b).** *A biochemical study of experimental Johne's disease. III. Protein metabolism in sheep and mice.* Journal of Comparative Pathology, **84** (3), 391-398.
- Altare, F., Lammas, D., Revy, P., Jouanguy, E., Döffinger, R., Lamhamedi, S., Drysdale, P., Scheel-Toeilner, D., Girdlestone, J., Darbyshire, P., Wadhwa, M., Dockrell, H., Salmon, M., Fischer, A., Durandy, A., Casanova, J.-L. et Kumararatne, D.S. (1998).** *Inherited interleukin 12 deficiency in a child with bacille Calmette-Guerin and Salmonella enteritidis disseminated infection.* Journal of Clinical Investigation, **102** (12), 2035-2040.
- Andersson, R.E., Olaison, G., Tysk, C. et Ekblom, A. (2001).** *Appendectomy and protection against ulcerative colitis.* New England Journal of Medicine, **344** (11), 808-814.
- Antognoli, M.C., Garry, F.B., Hirst, H.L., Lombard, J.E., Dennis, M.M., Gould, D.H. et Salman, M.D. (2008).** *Characterization of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis disseminated infection in dairy cattle and its association with antemortem test results.* Veterinary Microbiology, **127** (3-4), 300-308.
- Argenté, G., Daniel, L., Hinaut, B., Le Roy, N. et Berdellou, H. (2002).** *Maîtrise de la paratuberculose : résultats obtenus dans les Côtes-d'Armor.* Bulletin des GTV Hors Série « Paratuberculose », 47-53.
- Armitage, E.L., Aldhous, M.C., Anderson, N., Drummond, H.E., Riemersma, R.A., Ghosh, S. et Satsangi, J. (2004).** *Incidence of juvenile-onset Crohn's disease in Scotland : Association with northern latitude and affluence.* Gastroenterology, **127** (4), 1051-1057.
- Autschbach, F., Eisold, S., Hinz, U., Zinser, S., Linnebacher, M., Giese, T., Löffler, T., Büchler, M.W. et Schmidt, J. (2005).** *High prevalence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis IS 900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease.* Gut, **54** (7), 944-949.
- Ayele, W.Y., Svastova, P., Roubal, P., Bartos, M. et Pavlik, I. (2005).** *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis cultured from locally and commercially pasteurized cow's milk in the Czech Republic.* Applied and Environmental Microbiology, **71** (3), 1210-1214.
- Baron, S., Turck, D., Leplat, C., Merle, V., Gower-Rousseau, C., Marti, R., Yzet, T., Lerebours, E., Dupas, J.-L., Debeugny, S., Salomez, J.-L., Cortot, A. et Colombel, J.-F. (2005).** *Environmental risk factors in paediatric inflammatory bowel diseases : a population based case control study.* Gut, **54** (3), 357-363.
- Barreau, F., Meinzer, U., Chareyre, F., Berrebi, D., Niwa-Kawakita, M., Dussailant, M., Foligne, B., Ollendorff, V., Heyman, M., Bonacorsi, S., Lesuffleur, T., Sterkers, G., Giovannini, M. et Hugot, J.P. (2007).** *CARD15/NOD2 is required for Peyer's patches homeostasis in mice.* PLoS ONE, **2** (6), e523.

- Baumgart, D.C. et Carding, S.R. (2007).** *Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology.* Lancet, **369** (9573), 1627-1640.
- Baumgart, D.C. et Sandborn, W.J. (2007).** *Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies.* Lancet, **369** (9573), 1641-1657.
- Beaudeau, F., Belliard, M., Joly, A. et Seegers, H. (2007).** *Reduction in milk yield associated with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (Map) infection in dairy cows.* Veterinary Research, **38** (4), 625-634.
- Beaugerie, L., Seksik, P., Nion-Larmurier, I., Gendre, J. P. et Cosnes, J. (2006).** *Predictors of Crohn's disease.* Gastroenterology, **130** (3), 650-656.
- Behr, M.A. et Kapur, V. (2008).** *The evidence for Mycobacterium paratuberculosis in Crohn's disease.* Current Opinion in Gastroenterology, **24** (1), 17-21.
- Bellamy, R. (2003).** *Susceptibility to mycobacterial infections: the importance of host genetics.* Genes and Immunity, **4**, 4-11.
- Bendixen, P.H., Bloch, B. et Jorgensen, J.B. (1981).** *Lack of intracellular degradation of Mycobacterium paratuberculosis by bovine macrophages infected in vitro and in vivo: light microscopic and electron microscopic observations.* American Journal of Veterinary Research, **42** (1), 109-113.
- Benedictus, G., Dijkhuizen, A.A. et Stelwagen, J. (1987).** *Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle.* Veterinary Record, **121** (7), 142-146.
- Berger, S.T. et Griffin, F.T. (2006).** *A comparison of ovine monocyte-derived macrophage function following infection with Mycobacterium avium ssp. avium and Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis.* Immunology and Cell Biology, **84** (4), 349-356.
- Berghaus, R.D., Farver, T.B., Anderson, R.J., Jaravata, C.C. et Gardner, I.A. (2006).** *Environmental sampling for detection of Mycobacterium ssp. paratuberculosis on large california dairies.* Journal of Dairy Science, **89**, 963-970.
- Bernstein, C.N., Blanchard, J.F., Rawsthorne, P. et Collins, M.T. (2004).** *Population-based case control study of seroprevalence of Mycobacterium paratuberculosis in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis.* Journal of Clinical Microbiology, **42** (3), 1129-1135.
- Bhide, M., Chakurkar, E., Tkacikova, L., Barbuddhe, S., Novak, M. et Mikula, I. (2006).** *IS 900-PCR-based detection and characterization of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis from buffy coat of cattle and sheep.* Veterinary Microbiology, **112** (1), 33-41.
- Bielefeldt-Ohmann, H., Campos, M., Snider, M., Rapin, N., Beskorwayne, T., Popowych, Y., Lawman, M.J.P., Rossi, A. et Babiuk, L.A. (1989).** *Effect of chronic administration of recombinant bovine tumor necrosis factor to cattle.* Veterinary Pathology, **26** (6), 462-472.
- Boelaert, F., Walravens, K., Biron, P., Vermeersch, J.P., Berkvens, D. et Godfroid, J. (2000).** *Prevalence of paratuberculosis (Johne's disease) in the Belgian cattle population.* Veterinary Microbiology, **77** (3-4), 269-281.
- Buergelt, C.D. et Duncan, J.R. (1978).** *Age and milk production data of cattle culled from a dairy herd with paratuberculosis.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **173** (5 1), 478-480.
- Buergelt, C.D., Hall, C., McEntee, K. et Duncan, J.R. (1978).** *Pathological evaluation of paratuberculosis in naturally infected cattle.* Veterinary Pathology, **15** (2), 196-207.
- Buergelt, C.D. et Williams, J.E. (2004).** *Nested PCR on blood and milk for the detection of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis DNA in clinical and subclinical bovine paratuberculosis.* Australian Veterinary Journal, **82** (8), 497-503.
- Bush, R.D., Windsor, P. et Toribio, J.A. (2006).** *Losses of adult sheep due to ovine Johne's disease in 12 infected flocks over a 3-year period.* Australian Veterinary Journal, **84** (7), 246-256.
- Caldow, G. et Henderson, D. (2000).** *Control.* In: Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB. DEFRA, SAC Veterinary Science Division, **2008**, 38-49. http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/zoonoses/zoonoses_reports/sac2.PDF.
- Calkins, B.M. (1989).** *A meta-analysis of the role of smoking in inflammatory bowel disease.* Digestive Diseases and Sciences, **34** (12), 1841-1854.

- Cerf, O., Griffiths, M. et Aziza, F. (2007).** *Assessment of the prevalence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in commercially pasteurized milk.* Foodborne Pathogens and Disease, **4** (4), 433-447.
- Chiodini, R.J. (1989).** *Crohn's disease and the mycobacterioses: A review and comparison of two disease entities.* Clinical Microbiology Reviews, **2** (1), 90-117.
- Chiodini, R.J., Van Kruiningen, H.J. et Merkal, R.S. (1984).** *Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects.* The Cornell veterinarian, **74** (3), 218-262.
- Clarke, C.J. (1997).** *The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species.* Journal of Comparative Pathology, **116** (3), 217-261.
- Collins, M.T., Lisby, G., Moser, C., Chicks, D., Christensen, S., Reichelderfer, M., Høiby, N., Harms, B.A., Thomsen, O.Ø., Skibsted, U. et Binder, V. (2000).** *Results of multiple diagnostic tests for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in patients with inflammatory bowel disease and in controls.* Journal of Clinical Microbiology, **38** (12), 4373-4381.
- Collins, M. T. et Morgan, I. R. (1991).** *Economic decision analysis model of a paratuberculosis test and cull program.* Journal of American Veterinary Medical Association, **199**, 1724-1729.
- Collins, M.T., Spahr, U. et Murphy, P.M. (2001).** *Ecological characteristics of M. paratuberculosis.* Bulletin of the International Dairy Federation, **362**, 32-40.
- Colombel, J.-F., Grandbastien, B., Gower-Rousseau, C., Plegat, S., Evrard J.-, P., Dupas, J.-L., Gendre, J.-P., Modigliani, R., Belaiche, J., Hostein, J., Hugot J.-, P., Van Kruiningen, H. et Cortot, A. (1996).** *Clinical characteristics of Crohn's disease in 72 families.* Gastroenterology, **111** (3), 604-607.
- Corti, S. et Stephan, R. (2002).** *Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis specific IS 900 insertion sequences in bulk-tank milk samples obtained from different regions throughout Switzerland.* BMC Microbiology, **2**, 1-7.
- Cosnes, J. (2004).** *Tobacco and IBD: Relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice.* Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology, **18** (3), 481-496.
- Cosnes, J., Beaugerie, L., Carbonnel, F. et Gendre, J.-P. (2001).** *Smoking cessation and the course of Crohn's disease: An intervention study.* Gastroenterology, **120** (5), 1093-1099.
- Cosnes, J., Carbonnel, F., Beaugerie, L., Blain, A., Reijasse, D. et Gendre, J.P. (2002a).** *Effects of appendicectomy on the course of ulcerative colitis.* Gut, **51** (6), 803-7.
- Cosnes, J., Cattan, S., Blain, A., Beaugerie, L., Carbonnel, F., Parc, R. et Gendre, J.-P. (2002b).** *Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease.* Inflammatory Bowel Diseases, **8** (4), 244-250.
- Coulie, B., Camilleri, M., Bharucha, A.E., Sandborn, W.J. et Burton, D. (2001).** *Colonic motility in chronic ulcerative proctosigmoiditis and the effects of nicotine on colonic motility in patients and healthy subjects.* Alimentary Pharmacology and Therapeutics, **15** (5), 653-663.
- Coussens, P.M., Verman, N., Coussens, M.A., Elftman, M.D. et McNulty, A.M. (2004).** *Cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells and tissues of cattle infected with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: Evidence for an inherent proinflammatory gene expression pattern.* Infection and Immunity, **72** (3), 1409-1422.
- Crohn, B.B., Ginzburg, L. et Oppenheimer, G.D. (1932).** *Regional ileitis: a pathologic and clinical entity.* Journal of the American Medical Association, **99**, 1323-1329.
- Dalzeil, T.K. (1913).** *Chronic intestinal enteritis.* British Medical Journal, **2**, 1068-1070.
- Daniels, M.J., Hutchings, M.R., Beard, P.M., Henderson, D., Greig, A., Stevenson, K. et Sharp, J.M. (2003).** *Do non-ruminant wildlife pose a risk of paratuberculosis to domestic livestock and vice versa in Scotland?* Journal of Wildlife Diseases, **39** (1), 10-15.
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.-L., Barnich, N., Bringer, M.-A., Swidsinski, A., Beaugerie, L. et Colombel, J.-F. (2004).** *High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease.* Gastroenterology, **127** (2), 412-421.
- Dargatz, D.A., Byrum, B.A., Hennager, S.G., Barber, L.K., Koprak, C.A., Wagner, B.A. et Wells, S.J. (2001).** *Prevalence of antibodies against Mycobacterium avium subsp paratuberculosis among beef cow-calf herds.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **219** (4), 497-501.

De Lisle, G.W. et Milestone, B.A. (1989). *The economic impact of Johne's disease in New Zealand.* In: Johne's disease: current trend in research, diagnosis and management. Editions Milner et Wood, Melbourne, Australia. 41-45.

DEFRA (2000). *Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB.* http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/zoonoses/zoonoses_reports/sac2.PDF

D'Haens, G.R., Geboes, K., Peeters, M., Baert, F., Penninckx, F. et Rutgeerts, P. (1998). *Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum.* *Gastroenterology*, **114** (2), 262-267.

Douart, A. (2002). *Rappels sur le bacille paratuberculeux, sur l'épidémiologie de la paratuberculose bovine, ses manifestations cliniques, le traitement.* In: Rapport du groupe de travail relatif à la certification de la paratuberculose bovine. Association pour la certification de la santé animale, Paris, France.

Dufour, B., Pouillot, R. et Durand, B. (2004). *A cost/benefit study of paratuberculosis certification in French cattle herds.* *Veterinary Research*, **35** (1), 69-81.

Duggan, A.E., Usmani, I., Neal, K.R. et Logan, R.F.A. (1998). *Appendectomy, childhood hygiene, Helicobacter pylori status, and risk of inflammatory bowel disease: A case control study.* *Gut*, **43** (4), 494-498.

EFSA (2004). *Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on the risk of transmission of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis via bovine semen.* *The EFSA Journal*, **110**, 1-59.

Ekbom, A. (2004). *The epidemiology of IBD: A lot of data but little knowledge. How shall we proceed?* *Inflammatory Bowel Diseases*, **10** (SUPPL. 1), S32-S34.

Ekbom, A., Daszak, P., Kraaz, W. et Wakefield, A.J. (1996). *Crohn's disease after in-utero measles virus exposure.* *Lancet*, **348** (9026), 515-517.

Ekbom, A. et Montgomery, S.M. (2004). *Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): Critical analysis of old and new hypotheses.* *Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, **18** (3), 497-508.

Ekbom, A., Wakefield, A.J., Zack, M. et Adami, H.O. (1994). *Perinatal measles infection and subsequent Crohn's disease.* *Lancet*, **344** (8921), 508-510.

Ellingson, J.L.E., Anderson, J.L., Koziczowski, J.J., Radcliff, R.P., Sloan, S.J., Allen, S.E. et Sullivan, N.M. (2005). *Detection of viable Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in retail pasteurized whole milk by two culture methods and PCR.* *Journal of Food Protection*, **68** (5), 966-972.

Eppleston, J. et Whittington, R.J. (2001). *Isolation of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis from the semen of rams with clinical Johne's disease.* *Australian Veterinary Journal*, **79** (11), 776-777.

Faubion Jr., W.A., Loftus Jr., E.V., Harmsen, W.S., Zinsmeister, A.R. et Sandborn, W.J. (2001). *The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study.* *Gastroenterology*, **121** (2), 255-260.

Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., Pfyffer, G.E., Jemmi, T., Baumgartner, A. et Egger, M. (2007). *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis.* *Lancet Infectious Diseases*, **7** (9), 607-613.

Feng, C.G., Collazo-Custodio, C.M., Eckhaus, M., Hieny, S., Belkaid, Y., Elkins, K., Jankovic, D., Taylor, G.A. et Sher, A. (2004). *Mice deficient in LRG-47 display increased susceptibility to mycobacterial infection associated with the induction of lymphopenia.* *Journal of Immunology*, **172** (2), 1163-1168.

Feola, R.P., Collins, M.T. et Czuprynski, C.J. (1999). *Hormonal modulation of phagocytosis and intracellular growth of Mycobacterium avium ss. paratuberculosis in bovine peripheral blood monocytes.* *Microbial Pathogenesis*, **26** (1), 1-11.

Ferwerda, G., Kullberg, B.J., De Jong, D.J., Girardin, S.E., Langenberg, D.M.L., Van Crevel, R., Ottenhoff, T.H.M., Van Der Meer, J.W.M. et Netea, M.G. (2007). *Mycobacterium paratuberculosis is recognized by Toll-like receptors and NOD2.* *Journal of Leukocyte Biology*, **82** (4), 1011-1018.

Fischer, O., Matlova, L., Dvorska, L., Svastova, P., Bartl, J., Melicharek, I., Weston, R.T. et Pavlik, I. (2001). *Diptera as vectors of mycobacterial infections in cattle and pigs.* *Medical and Veterinary Entomology*, **15** (2), 208-211.

- Fischer, O.A., Matlova, L., Dvorska, L., Svastova, P. et Pavlik, I. (2003).** *Nymphs of the Oriental cockroach (Blatta orientalis) as passive vectors of causal agents of avian tuberculosis and paratuberculosis.* Medical and Veterinary Entomology, **17** (2), 145-150.
- Fischer, O.A., Matlova, L., Dvorska, L., Svastova, P., Peral, D.L., Weston, R.T., Bartos, M. et Pavlik, I. (2004).** *Beetles as possible vectors of infections caused by Mycobacterium avium species.* Veterinary Microbiology, **102** (3-4), 247-255.
- Flamenbaum, M., Zenut, M., Aublet-Cuvelier, B., Larpent, J.-L., Fabre, P., Epimici, L.G., Abergel, A., Dapoigny, M. et Bommelaer, G. (1997).** *Incidence des maladies inflammatoires du tube digestif dans le département du Puy-de-Dôme en 1993 et 1994.* Gastroenterologie Clinique et Biologique, **21** (6-7), 491-496.
- Frelief, P.F., Templeton, J.W., Estes, M., Whitford, H.W. et Kienle, R.D. (1990).** *Genetic regulation of Mycobacterium paratuberculosis infection in recombinant inbred mice.* Veterinary pathology, **27** (5), 362-364.
- Gao, A., Mutharia, L., Chen, S., Rahn, K. et Odumeru, J. (2002).** *Effect of pasteurization on survival of Mycobacterium paratuberculosis in milk.* Journal of Dairy Science, **85** (12), 3198-3205.
- Garcia Marin, J.F., Tellechea, J., Guttierrez, M., Corpa, J.M. et Pérez, V. (1999).** *Évaluation of two vaccines (killed and attenuated) against small ruminant paratuberculosis.* Sixth International Colloquium on Paratuberculosis, Melbourne, Australia, Editions International Association for Paratuberculosis, 234-241.
- Gasche, C., Scholmerich, J., Brynskov, J., D'Haens, G., Hanauer, S.B., Jan Irvine, E., Jewell, D.P., Rachmilewitz, D., Sachar, D.B., Sandborn, W.J. et Sutherland, L.R. (2000).** *A simple classification of Crohn's disease: report of the working party for the world congresses of gastroenterology, Vienna 1998.* Inflammatory Bowel Diseases, **6** (1), 8-15.
- Gascoyne-Binzi, D.M., Barlow, R.E.L., Frothingham, R., Robinson, G., Collyns, T.A., Gelletlie, R. et Hawkey, P.M. (2001).** *Rapid identification of laboratory contamination with Mycobacterium tuberculosis using variable number tandem repeat analysis.* Journal of Clinical Microbiology, **39** (1), 69-74.
- Gent, A.E., Hellier, M.D., Grace, R.H., Swarbrick, E.T. et Coggon, D. (1994).** *Inflammatory bowel disease and domestic hygiene and infancy.* Lancet, **343** (8900), 766-767.
- Giese, S.B. et Ahrens, P. (2000).** *Detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in milk from clinically affected cows by PCR and culture.* Veterinary Microbiology, **77** (3-4), 291-297.
- Gollnick, N.S., Mitchell, R.M., Baumgart, M., Janagama, H.K., Sreevatsan, S. et Schukken, Y.H. (2007).** *Survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in bovine monocyte-derived macrophages is not affected by host infection status but depends on the infecting bacterial genotype.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **120** (3-4), 93-105.
- Gonda, M.G., Kirkpatrick, B.W., Shook, G.E. et Collins, M.T. (2007).** *Identification of a QTL on BTA20 affecting susceptibility to Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis infection in US Holsteins.* Animal Genetics, **38** (4), 389-396.
- Gower-Rousseau, C., Salomez, J.-L., Dupas, J.-L., Marti, R., Nuttens, M.-C., Votte, A., Lemahieu, M., Lemaire, B., Colombel, J.-F. et Cortot, A. (1994).** *Incidence of inflammatory bowel disease in northern France (1988-1990).* Gut, **35** (10), 1433-1438.
- Grant, I.R., Ball, H.J. et Rowe, M.T. (2002).** *Incidence of Mycobacterium paratuberculosis in bulk raw and commercially pasteurized cows'milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom.* Applied and Environmental Microbiology, **68** (5), 2428-2435.
- Grant, I.R., Williams, A.G., Rowe, M.T. et Muir, D.D. (2005).** *Efficacy of various pasteurization time-temperature conditions in combination with homogenization on inactivation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in milk.* Applied and Environmental Microbiology, **71** (6), 2853-2861.
- Greenstein, A.J., Lachman, P., Sachar, D.B., Springhorn, J., Heimann, T., Janowitz, H.D. et Aufses Jr., A.H. (1988).** *Perforating and non-perforating indications for repeated operations in Crohn's disease: evidence for two clinical forms.* Gut, **29** (5), 588-592.
- Greenstein, R.J. (2003).** *Is Crohn's disease caused by a mycobacterium? Comparisons with leprosy, tuberculosis, and Johne's disease.* Lancet Infectious Diseases, **3** (8), 507-514.
- Grossman, A., Fireman, Z., Lilos, P., Novis, B., Rozen, P. et Gilat, T. (1989).** *Epidemiology of ulcerative colitis in the Jewish population of central Israel 1970-1980.* Hepato-Gastroenterology, **36** (4), 193-197.

- Gui, G.P.H., Thomas, P.R.S., Tizard, M.L.V., Lake, J., Sanderson, J.D. et Hermon-Taylor, J. (1997).** *Two-year-outcomes analysis of Crohn's disease treated with rifabutin and macrolide antibiotics.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **39** (3), 393-400.
- Gwozdz, J.M., Reichel, M.P., Murray, A., Manktelow, W., West, D.M. et Thompson, K.G. (1997).** *Detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in ovine tissues and blood by the polymerase chain reaction.* Veterinary Microbiology, **57** (2-3), 233-244.
- Hacker, U., Huttner, K. et Konow, M. (2004).** *Investigation of serological prevalence and risk factors of paratuberculosis in dairy farms in the State of Mecklenburg-Westpommern, Germany.* Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift, **117** (3-4), 140-144.
- Halfvarson, J., Bodin, L., Tysk, C., Lindberg, E. et Järnerot, G. (2003).** *Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: A long-term follow-up of concordance and clinical characteristics.* Gastroenterology, **124** (7), 1767-1773.
- Hamilton, H.L., Follett, D.M., Siegfried, L.M. et Czuprynski, C.J. (1989).** *Intestinal multiplication of Mycobacterium paratuberculosis in athymic nude gnotobiotic mice.* Infection and Immunity, **57** (1), 225-230.
- Hanauer, S.B. (2006).** *Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities.* Inflammatory Bowel Diseases, **12** (SUPPL. 1), S3-S9.
- Herman, L., Dejonghe, V. et Dumon, I. (2005).** *Survival of Mycobacterium paratuberculosis to milk pasteurisation.* 8th International Colloquium on Paratuberculosis, Copenhagen, Denmark.
- Hill, B.B., West, M. et Brock, K.V. (2003).** *An estimated prevalence of Johne's disease in a subpopulation of Alabama beef cattle.* Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, **15** (1), 21-25.
- Hillion, E. et Argentié, G. (1987).** *Plans de lutte contre la paratuberculose dans les Côtes-du-Nord: aspects sanitaires et économiques.* Point Vét., **19** (104), 123-130.
- Hinger, M., Brandt, H., Horner, S. et Erhard, G. (2007).** *Short communication: association analysis of microsatellites and Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis antibody response in German holsteins.* Journal of Dairy Science, **90** (4), 1957-1961.
- Hirst, H.L., Garry, F.B., Morley, P.S., Salman, M.D., Dinsmore, R.P., Wagner, B.A., McSweeney, K.D. et Goodell, G.M. (2004).** *Seroprevalence of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis infection among dairy cows in Colorado and herd-level risk factors for seropositivity.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **225** (1), 97-101.
- Hostetter, J.M., Steadham, E.M., Haynes, J.S., Bailey, T.B. et Cheville, N.F. (2002).** *Cytokine effects on maturation of the phagosomes containing Mycobacteria avium subspecies paratuberculosis in J774 cells.* FEMS Immunology and Medical Microbiology, **34** (2), 127-134.
- Hugot, J.-P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J.-P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'morain, C.A., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, A., Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J.-F., Sahbatou, M. et Thomas, G. (2001).** *Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease.* Nature, **411** (6837), 599-603.
- Hutchinson, L.J. (1996).** *Economic impact of paratuberculosis.* The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, **12** (2), 373-381.
- Ibbotson, J.P., Lowes, J.R., Chahal, H., Gaston, J.S.H., Life, P., Kumararatne, D.S., Sharif, H., Alexander-Williams, J. et Allan, R.N. (1992).** *Mucosal cell-mediated immunity to mycobacterial, enterobacterial and other microbial antigens in inflammatory bowel disease.* Clinical and Experimental Immunology, **87** (2), 224-230.
- Jakobsen, M.B., Alban, L. et Nielsen, S.S. (2000).** *A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows.* Preventive Veterinary Medicine, **46** (1), 15-27.
- Järnerot, G., Jarnmark, I. et Nilsson, K. (1983).** *Consumption of refined sugar by patients with Crohn's disease, ulcerative colitis, or irritable bowel syndrome.* Scandinavian Journal of Gastroenterology, **18** (8), 999-1002.
- Johnson, Y.J., Kaneene, J.B., Gardiner, J.C., Lloyd, J.W., Sprecher, D.J. et Coe, P.H. (2001).** *The effect of subclinical Mycobacterium paratuberculosis infection on milk production in Michigan dairy cows.* Journal of Dairy Science, **84** (10), 2188-2194.

- Jones, P.H., Farver, T.B., Beaman, B., Cetinkaya, B. et Morgan, K.L. (2006).** *Crohn's disease in people exposed to clinical cases of bovine paratuberculosis.* *Epidemiology and Infection*, **134** (1), 49-56.
- Jubb, T.F. et Galvin, J.W. (2004).** *Effect of a test and control program for bovine Johne's disease in Victorian dairy herds 1992-2002.* *Australian Veterinary Journal*, **82** (4), 228-232.
- Kalis, C.H.J., Barkema, H.W. et Hesselink, J.W. (1999).** *Long-term use of a killed vaccine does not prevent fecal shedding of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.* Sixth International Colloquium on Paratuberculosis, Melbourne, Australia, Editions International Association for Paratuberculosis, 153-156.
- Kalis, C.H.J., Collins, M.T., Barkema, H.W. et Hesselink, J.W. (2004).** *Certification of herds as free of Mycobacterium paratuberculosis infection: actual pooled faecal results versus certification model predictions.* *Preventive Veterinary Medicine*, **65** (3-4), 189-204.
- Kasravi, R. et Nowrouzian, I. (2004).** *Clinical paratuberculosis as a cause for higher culling rate in cows with left displaced abomasum and diarrhoea in a Holstein dairy herd.* *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, **51** (6), 302-303.
- Khalifeh, M.S. et Stabel, J.R. (2004a).** *Effects of gamma interferon, interleukin-10, and transforming growth factor beta on the survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in monocyte-derived macrophages from naturally infected cattle.* *Infection and Immunity*, **72** (4), 1974-1982.
- Khalifeh, M.S. et Stabel, J.R. (2004b).** *Upregulation of transforming growth factor-beta and interleukin-10 in cows with clinical Johne's disease.* *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **99** (1-2), 39-46.
- Khodakaram Tafti, A. et Rashidi, K. (2000).** *The pathology of goat paratuberculosis: gross and histopathological lesions in the intestines and mesenteric lymph nodes.* *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, **47** (7), 497-495.
- Klijn, N., Herrewegh, A.A.P.M. et De Jong, P. (2001).** *Heat inactivation data for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: implications for interpretation.* *Journal of Applied Microbiology*, **91** (4), 697-704.
- Koets, A.P., Adugna, G., Janss, L.L.G., Van Weering, H.J., Kalis, C.H.J., Wentink, G.H., Rutten, V.P.M.G. et Schukken, Y.H. (2000).** *Genetic variation of susceptibility to Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in dairy cattle.* *Journal of Dairy Science*, **83** (11), 2702-2708.
- Koutroubakis, I.E., Vlachonikolis, I.G., Kapsoritakis, A., Spanoudakis, S., Roussomoustakaki, M., Mouzas, I.A., Kouroumalis, E.A. et Manousos, O.N. (1999).** *Appendectomy, tonsillectomy, and risk of inflammatory bowel disease: case-controlled study in Crete.* *Diseases of the Colon and Rectum*, **42** (2), 225-230.
- Koutroubakis, I.E., Vlachonikolis, I.G. et Kouroumalis, E.A. (2002).** *Role of appendicitis and appendectomy in the pathogenesis of ulcerative colitis: a critical review.* *Inflamm Bowel Dis*, **8** (4), 277-86.
- Kudahl, A., Nielsen, S.S. et Sørensen, J.T. (2004).** *Relationship between antibodies against Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in milk and shape of lactation curves.* *Preventive Veterinary Medicine*, **62** (2), 119-134.
- Kuehnel, M.P., Goethe, R., Habermann, A., Mueller, E., Rohde, M., Griffiths, G. et Valentin-Weigand, P. (2001).** *Characterization of the intracellular survival of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis: phagosomal pH and fusogenicity in J774 macrophages compared with other mycobacteria.* *Cellular Microbiology*, **3** (8), 551-566.
- Lambeth, C., Reddacliff, L.A., Windsor, P., Abbott, K.A., McGregor, H. et Whittington, R.J. (2004).** *Intrauterine and transmammary transmission of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis in sheep.* *Australian Veterinary Journal*, **82** (8), 504-508.
- Lamps, L. W., Madhusudhan, K. T., Havens, J. M., Greenson, J. K., Bronner, M. P., Chiles, M. C., Dean, P. J. et Scott, M. A. (2003).** *Pathogenic Yersinia DNA is detected in bowel and mesenteric lymph nodes from patients with Crohn's disease.* *American Journal of Surgical Pathology*, **27** (2), 220-227.
- Langholz, E., Munkholm, P., Davidsen, M. et Binder, V. (1994).** *Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years.* *Gastroenterology*, **107** (1), 3-11.
- Larsen, A.B., Merkal, R.S. et Cutlip, R.C. (1975).** *Age of cattle as related to resistance to infection with Mycobacterium paratuberculosis.* *American Journal of Veterinary Research*, **36** (3), 255-257.
- Larsen, A.B., Merkal, R.S. et Vardaman, T.H. (1956).** *Survival time of Mycobacterium paratuberculosis.* *American Journal of Veterinary Research*, **17**, 549-551.

- Larsen, A.B., Moyle, A.I. et Himes, E.M. (1978).** *Experimental vaccination of cattle against paratuberculosis (John's disease) with killed bacterial vaccines: a controlled field study.* American Journal of Veterinary Research, **39** (1), 65-69.
- Larsen, A.B., Stalheim, O.H., Hughes, D.E., Appell, L.H., Richards, W.D. et Himes, E.M. (1981).** *Mycobacterium paratuberculosis in the semen and genital organs of a semen-donor bull.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **179** (2), 169-171.
- Lemire, J.M., Archer, D.C., Beck, L. et Spiegelberg, H.L. (1995).** *Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃: preferential inhibition of Th1 functions.* Journal of Nutrition, **125** (6 SUPPL.), 1704S-1708S.
- Lepper, A.W., Embury, D.H., Anderson, D.A. et Lewis, V.M. (1989).** *Effects of altered dietary iron intake in Mycobacterium paratuberculosis-infected dairy cattle: sequential observations on growth, iron and copper metabolism and development of paratuberculosis.* Research in Veterinary Science, **46** (3), 289-296.
- Lepper, A.W., Jarrett, R.G. et Lewis, V.M. (1988).** *The effect of different levels of iron intake on the multiplication of Mycobacterium paratuberculosis in C57 and C3H mice.* Veterinary Microbiology, **16** (4), 369-383.
- Lesage, S., Zouali, H., Cézard, J.-P., Colombel, J.-F., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Modigliani, R., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Merlin, F., Chamaillard, M., Jannot, A.-S., Thomas, G. et Hugot, J.-P. (2002).** *CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease.* American Journal of Human Genetics, **70** (4), 845-857.
- Levenstein, S., Prantera, C., Varvo, V., Scribano, M.L., Berto, E., Andreoli, A. et Luzi, C. (1994).** *Psychological stress and disease activity in ulcerative colitis: a multidimensional cross-sectional study.* American Journal of Gastroenterology, **89** (8), 1219-1225.
- Loftus Jr., E.V. (2004).** *Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences.* Gastroenterology, **126** (6), 1504-1517.
- Loftus Jr., E.V., Schoenfeld, P. et Sandborn, W.J. (2002).** *The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population-based patient cohorts from North America: a systematic review.* Alimentary Pharmacology and Therapeutics, **16** (1), 51-60.
- Lombard, J.E., Garry, F.B., McCluskey, B.J. et Wagner, B.A. (2005).** *Risk of removal and effects on milk production associated with paratuberculosis status in dairy cows.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **227** (12), 1975-1981.
- Lomer, M.C.E., Thompson, R.P.H. et Powell, J.J. (2002).** *Fine and ultrafine particles of the diet: Influence on the mucosal immune response and association with crohn's disease.* Proceedings of the Nutrition Society, **61** (1), 123-130.
- Lopez Cruz, A., Perales Flores, A., Sanchez-Prieto Borja, M., Franco Canyon, M.J. et Puentes Colorado, E. (1999).** *Vaccination of cattle against paratuberculosis with an inactivated vaccine - a controlled field study in an infected herd.* Sixth International Colloquium on Paratuberculosis, Melbourne, Australia, Editions International Association for Paratuberculosis, 219-225.
- Lovell, R., Levi, M. et Francis, J. (1944).** *Studies on the survival of John's bacilli.* Journal of Comparative Pathology (54), 120-129.
- Manning, E.J.B. et Collins, M.T. (2001).** *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: pathogen, pathogenesis and diagnosis.* OIE Revue Scientifique et Technique, **20** (1), 133-150.
- Mathew, C.G. (2008).** *New links to the pathogenesis of Crohn disease provided by genome-wide association scans.* Nature Reviews Genetics, **9** (1), 9-14.
- McClure, H.M., Chiodini, R.J. et Anderson, D.C. (1987).** *Mycobacterium paratuberculosis infection in a colony of stump-tail macaques (Macaca arctoides).* Journal of Infectious Diseases, **155** (5), 1011-1019.
- McDonald, W., Ridge, S.E., Hope, A. et Condron, R. (1999).** *Évaluation of diagnostic tests for John's disease in young cattle.* Australian Veterinary Journal, **77** (2), 113-119.
- McDonald, W.L., O'Riley, K.J., Schroen, C.J. et Condron, R.J. (2005).** *Heat inactivation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in milk.* Applied and Environmental Microbiology, **71** (4), 1785-1789.

- McKenna, S.L.B., Keefe, G.P., Tiwari, A., VanLeeuwen, J. et Barkema, H.W. (2006).** *Johne's disease in Canada Part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers.* Canadian Veterinary Journal, **47** (11), 1089-1099.
- McNab, W.B., Meek, A.H., Duncan, J.R., Martin, S.W. et Van Dreumel, A.A. (1991).** *An epidemiological study of paratuberculosis in dairy cattle in Ontario: study design and prevalence estimates.* Canadian journal of veterinary research, **55** (3), 246-251.
- Mendez, D., Gimenez, F., Escalona, A., Da Mata, O., Gonzalez, A., Takiff, H. et de Waard, J.H. (2006).** *Mycobacterium bovis cultured from commercially pasteurized cows'milk: laboratory cross-contamination.* Veterinary Microbiology, **116** (4), 325-328.
- Merkal, R.S., Larsen, A.B. et Booth, G.D. (1975).** *Analysis of the effects of inapparent bovine paratuberculosis.* American Journal of Veterinary Research, **36** (6), 837-838.
- Millar, D., Ford, J., Sanderson, J., Withey, S., Tizard, M., Doran, T. et Hermon-Taylor, J. (1996).** *IS 900 PCR to detect Mycobacterium paratuberculosis in retail supplies of whole pasteurized cows'milk in England and Wales.* Applied and Environmental Microbiology, **62** (9), 3446-3452.
- Mishina, D., Katsel, P., Brown, S.T., Gilberts, E.C.A.M. et Greenstein, R.J. (1996).** *On the etiology of Crohn disease.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **93** (18), 9816-9820.
- Molinie, F., Gower-Rousseau, C., Yzet, T., Merle, V., Grandbastien, B., Marti, R., Lerebours, E., Dupas, J.-L., Colombel, J.-F., Salomez, J.-L. et Cortot, A. (2004).** *Opposite evolution in incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Northern France (1988-1999).* Gut, **53** (6), 843-848.
- Momotani, E., Whipple, D.L., Thiermann, A.B. et Cheville, N.F. (1988).** *Role of M cells and macrophages in the entrance of Mycobacterium paratuberculosis into domes of ileal Peyer's patches in calves.* Veterinary Pathology, **25** (2), 131-137.
- Montgomery, S.M., Morris, D.L., Pounder, R.E. et Wakefield, A.J. (1999).** *Asian ethnic origin and the risk of inflammatory bowel disease.* European Journal of Gastroenterology and Hepatology, **11** (5), 543-546.
- Mortensen, H., Nielsen, S.S. et Berg, P. (2004).** *Genetic variation and heritability of the antibody response to Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in Danish Holstein cows.* Journal of Dairy Science, **87** (7), 2108-2113.
- Mougel, P. (1989).** *Influence de la paratuberculose bovine sur la lactation: résultats d'une enquête en élevage bovin laitier dans le département du Nord.* Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 59 pages.
- Munkholm, P., Langholz, E., Davidsen, M. et Binder, V. (1995).** *Disease activity courses in a regional cohort of Crohn's disease patients.* Scandinavian Journal of Gastroenterology, **30** (7), 699-706.
- Muskens, J., Barkema, H.W., Russchen, E., Van Maanen, K., Schukken, Y.H. et Bakker, D. (2000).** *Prevalence and regional distribution of paratuberculosis in dairy herds in the Netherlands.* Veterinary Microbiology, **77** (3-4), 253-261.
- Naser, S., Shafran, I. et El-Zaatari, F. (1999).** *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Crohn's disease is serologically positive.* Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, **6** (2), 282.
- Naser, S.A., Ghobrial, G., Romero, C. et Valentine, J.F. (2004).** *Culture of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from the blood of patients with Crohn's disease.* Lancet, **364** (9439), 1039-1044.
- Naser, S.A., Schwartz, D. et Shafran, I. (2000).** *Isolation of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis from breast milk of Crohn's disease patients [6].* American Journal of Gastroenterology, **95** (4), 1094-1095.
- Nielsen, S.S., Thamsborg, S.M., Houe, H. et Bitsch, V. (2000).** *Bulk-tank milk ELISA antibodies for estimating the prevalence of paratuberculosis in Danish dairy herds.* Preventive Veterinary Medicine, **44** (1-2), 1-7.
- Nordlund, K.V., Goodger, W.J., Pelletier, J. et Collins, M.T. (1996).** *Associations between subclinical paratuberculosis and milk production, milk components, and somatic cell counts in dairy herds.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **208** (11), 1872-1876.
- Olaisson, G., Smedh, K. et Sjudahl, R. (1992).** *Natural course of Crohn's disease after ileocolic resection: Endoscopically visualised ileal ulcers preceding symptoms.* Gut, **33** (3), 331-335.

- Olsen, I., Reitan, L.J., Holstad, G. et Wiker, H.G. (2000).** *Alkyl hydroperoxide reductases C and D are major antigens constitutively expressed by Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.* Infection and Immunity, **68** (2), 801-808.
- O'Reilly, C.E., O'Connor, L., Anderson, W., Harvey, P., Grant, I.R., Donaghy, J., Rowe, M. et O'Mahony, P. (2004).** *Surveillance of bulk raw and commercially pasteurized cows'milk from approved Irish liquid-milk pasteurization plants to determine the incidence of Mycobacterium paratuberculosis.* Applied and Environmental Microbiology, **70** (9), 5138-5144.
- Ott, S.L., Wells, S.J. et Wagner, B.A. (1999).** *Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations.* Preventive Veterinary Medicine, **40** (3-4), 179-192.
- Pagenault, M., Tron, I., Alexandre, J.-L., Cruchant, E., Dabadie, A., Chaperon, J., Robaszekiewicz, M., Bretagne, J.-F., Alexandre, J.L., Appriou, A., Assael, T., Auffret, Y., Auger, C., Balavoine, Y., Barek, J., Bécour, F., Bergerault, P., Berthe, Y., Besnard, M., Besseau, M., Blavon Duchesne, N., Boivin, J.L., Boulic, S., Boullier, G., Bouquet, M., Bolret, J.F., Bourguet, J.C., Boutin, J., Boutroux, D., Bredoux, P., Bretagne, H., Bretagne, J.P., Briand, T., Brissot, P., Bury, A., Busnel, A., Cado, J.P., Calament, G., Carré, D., Cauvin, J.M., Chailloux, P., Cherbuy, J., Chiappini, J. et Collinot, G. (1997).** *Incidence des maladies inflammatoires du tube digestif en Bretagne (1994-1995).* Gastroenterologie Clinique et Biologique, **21** (6-7), 483-490.
- Palmer, M.V., Stoffregen, W.C., Carpenter, J.G. et Stabel, J.R. (2005).** *Isolation of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis (MAP) from feral cats on a dairy farm with MAP-infected cattle.* Journal of Wildlife Diseases, **41** (3), 629-635.
- Patterson, D.S.P., Allen, W.M. et Lloyd, M.K. (1967).** *Clinical Johne's disease as a protein losing enteropathy.* Veterinary Record, **81**, 717-718.
- Payne, J.M. et Rankin, J.D. (1961).** *The pathogenesis of experimental Johne's disease in calves.* Research in Veterinary Science, **2**, 167-174.
- Pearce, L.E., Truong, H.T., Crawford, R.A., Yates, G.F., Cavaignac, S. et De Lisle, G.W. (2001).** *Effect of turbulent-flow pasteurization on survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis added to raw milk.* Applied and Environmental Microbiology, **67** (9), 3964-3969.
- Peeters, M., Nevens, H., Baert, F., Hiele, M., De Meyer, A.-M., Vlietinck, R. et Rutgeerts, P. (1996).** *Familial aggregation in Crohn's disease: Increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics.* Gastroenterology, **111** (3), 597-603.
- Polymeros, D., Bogdanos, D.P., Day, R., Arioli, D., Vergani, D. et Forbes, A. (2006).** *Does cross-reactivity between Mycobacterium avium paratuberculosis and human intestinal antigens characterize Crohn's disease?* Gastroenterology, **131** (1), 85-96.
- Probert, C.S.J., Jayanthi, V., Pinder, D., Wicks, A.C. et Mayberry, J.F. (1992).** *Epidemiological study of ulcerative proctocolitis in Indian migrants and the indigenous population of Leicestershire.* Gut, **33** (5), 687-693.
- Radon, K., Windstetter, D., Poluda, A.L., Mueller, B., Von Mutius, E., Koletzko, S., Düker, G., Lentze, M., Roggenkämper, P., Claßen, M., Ritzel, R., Laass, M.W., Henker, J., Pollack, K., Ballauff, A., Esser, J., Posselt, H.-G., Krahl, A., Lenhartz, H., Wenning, D., Kolling, G., Ehrh, O., Behrens, R., Gusek-Schneider, G.C., Rodeck, B., Seiberth, V., Lang, T., Lorenz, B., Friedburg, C., Enninger, A., Busch, A., Stern, M., Besch, D., Keller, K.M. et Steinhorst, U. (2007).** *Contact with farm animals in early life and juvenile inflammatory bowel disease: A case-control study.* Pediatrics, **120** (2), 354-361.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. et Hinchcliff, K.M. (2000).** *Paratuberculosis (Johne's disease).* In: Veterinary medicine. Editions Saunders, 9^e édition, London, UK. 920-934.
- Rast, L. et Whittington, R.J. (2005).** *Longitudinal study of the spread of ovine Johne's disease in a sheep flock in southeastern New South Wales.* Australian Veterinary Journal, **83** (4), 227-232.
- Reddacliff, L., Eppeleston, J., Windsor, P., Whittington, R. et Jones, S. (2006).** *Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks.* Veterinary Microbiology, **115** (1-3), 77-90.
- Reddacliff, L.A., Beh, K., McGregor, H. et Whittington, R.J. (2005).** *A preliminary study of possible genetic influences on the susceptibility of sheep to Johne's disease.* Australian Veterinary Journal, **83** (7), 435-441.
- Richards, W.D. et Thoen, C.O. (1977).** *Effect of freezing on the viability of Mycobacterium paratuberculosis in bovine feces.* Journal of Clinical Microbiology, **6** (4), 392-395.

- Rings, D.M. et Garry, F.B. (1988).** *Amyloidosis associated with paratuberculosis in a sheep.* Compendium Food Animal, **10**, 381-385.
- Rook, G.A.W. (1990).** *The role of activated macrophages in protection and immunopathology in tuberculosis.* Research in Microbiology, **141** (2), 253-256.
- Roussel, A.J., Libal, M.C., Whitlock, R.L., Hairgrove, T.B., Barling, K.S. et Thompson, J.A. (2005).** *Prevalence of and risk factors for paratuberculosis in purebred beef cattle.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **226** (5), 773-778.
- Russel, M.G., Dorant, E., Brummer, R.-J.M., Van De Kruus, M.A., Muris, J.W., Bergers, J.M., Goedhard, J. et Stockbrugger, R.W. (1997).** *Appendectomy and the risk of developing ulcerative colitis or Crohn's disease: results of a large case-control study.* Gastroenterology, **113** (2), 377-382.
- Saint-Marc, B., Guillermin, F., Milward, F., Reynaud, G., Lacoste, F. et Brun, A. (1991).** *Vaccination against paratuberculosis - new perspectives.* Third International Colloquium on Paratuberculosis, Orlando, USA, Editions International Association for Paratuberculosis, 469-474.
- Salem, M., Zeid, A.A., Hassan, D., El-Sayed, A. et Zschoeck, M. (2005).** *Studies on Johne's disease in Egyptian cattle.* Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health, **52** (3), 134-137.
- Sanderson, J.D., Moss, M.T., Tizard, M.L.V. et Hermon-Taylor, J. (1992).** *Mycobacterium paratuberculosis DNA in Crohn's disease tissue.* Gut, **33** (7), 890-896.
- Sartor, R.B. (2006).** *Mechanisms of disease: Pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis.* Nature Clinical Practice Gastroenterology and Hepatology, **3** (7), 390-407.
- Schroen, C., Kluver, P., McDonald, W., Butler, K., Condron, R. et Hope, A. (1999).** *Survival of M. paratuberculosis in the environment.* Report to meat and Livestock Australia, Sydney, Australia.
- Schwartz, D.A., Pemberton, J.H. et Sandborn, W.J. (2001).** *Diagnosis and treatment of perianal fistulas in Crohn's disease.* Annals of Internal Medicine, **135** (10), 906-918.
- Sechi, L.A., Gazouli, M., Ikonopoulou, J., Lukas, J.C., Scanu, A.M., Ahmed, N., Fadda, G. et Zanetti, S. (2005).** *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis, genetic susceptibility to Crohn's disease, and Sardinians: the way ahead.* Journal of Clinical Microbiology, **43** (10), 5275-5277.
- Selby, W., Pavli, P., Crotty, B., Florin, T., Radford-Smith, G., Gibson, P., Mitchell, B., Connell, W., Read, R., Merrett, M., Ee, H. et Hetzel, D. (2007).** *Two-Year Combination Antibiotic Therapy With Clarithromycin, Rifabutin, and Clofazimine for Crohn's Disease.* Gastroenterology, **132** (7), 2313-2319.
- Sergeant, E.S.G. (2001).** *Ovine Johne's disease in Australia - The first 20 years.* Australian Veterinary Journal, **79** (7), 484-491.
- Sergeant, E.S.G. et Baldock, F.C. (2002).** *The estimated prevalence of Johne's disease infected sheep flocks in Australia.* Australian Veterinary Journal, **80** (12), 762-768.
- Sevilla, I., Garrido, J.M., Geijo, M. et Juste, R.A. (2007).** *Pulsed-field gel electrophoresis profile homogeneity of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis isolates from cattle and heterogeneity of those from sheep and goats.* BMC Microbiology, **7**:18.
- Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L. et Van Blankenstein, M. (1996).** *Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD).* Gut, **39** (5), 690-697.
- Simutis, F.J., Jones, D.E. et Hostetter, J.M. (2007).** *Failure of antigen-stimulated gamma-delta T cells and CD4+ T cells from sensitized cattle to upregulate nitric oxide and mycobactericidal activity of autologous Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis-infected macrophages.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **116** (1-2), 1-12.
- Sorensen, O., Rawluk, S., Wu, J., Manninen, K. et Ollis, G. (2003).** *Mycobacterium paratuberculosis in dairy herds in Alberta.* Canadian Veterinary Journal, **44** (3), 221-226.
- Spears, H.N. (1959).** *Vaccination against Johne's disease: the results of a field trial experiment.* Veterinary Record, **71**, 1154-1156.

- Stabel, J., Pearce, L., Chandler, R., Hammer, P., Klijn, N., Cerf, O., Collins, M.T., Heggum, C. et Murphy, P. (2001).** *Destruction by heat of Mycobacterium paratuberculosis in milk and milk products.* Bulletin of the International Dairy Federation, **362**, 53-61.
- Stabel, J.R. (1995).** *Temporal effects of tumor necrosis factor-alpha on intracellular survival of Mycobacterium paratuberculosis.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **45** (3-4), 321-332.
- Stabel, J.R. (2006).** *Host responses to Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: a complex arsenal.* Animal health research reviews/Conference of Research Workers in Animal Diseases, **7** (1-2), 61-70.
- Stabel, J.R., Goff, J.P. et R. Ackermann, M. (1998).** *Dietary calcium modulates Mycobacterium paratuberculosis infection in beige mice.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **66** (3-4), 377-390.
- Stabel, J.R., Goff, J.P., Whipple, D.L., Ackermann, M.R. et Reinhardt, T.A. (1996).** *Low calcium diet and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ infusion modulate immune responses during Mycobacterium paratuberculosis infection in beige mice.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **50** (1-2), 127-143.
- Stabel, J.R. et Lambertz, A. (2004).** *Efficacy of pasteurization conditions for the inactivation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in milk.* Journal of Food Protection, **67** (12), 2719-2726.
- Streeter, R.N., Hoffsis, G.F., Bech-Nielsen, S., Shulaw, W.P. et Rings, D.M. (1995).** *Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from colostrum and milk of subclinically infected cows.* American journal of veterinary research, **56** (10), 1322-1324.
- Sweeney, R.W. (1996).** *Transmission of paratuberculosis.* The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, **12** (2), 305-312.
- Sweeney, R.W., Uzonna, J., Whitlock, R.H., Habecker, P.L., Chilton, P. et Scott, P. (2006).** *Tissue predilection sites and effect of dose on Mycobacterium avium subs. paratuberculosis organism recovery in a short-term bovine experimental oral infection model.* Research in Veterinary Science, **80** (3), 253-259.
- Sweeney, R.W., Whitlock, R.H. et Rosenberger, A.E. (1992).** *Mycobacterium paratuberculosis cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows.* Journal of Clinical Microbiology, **30** (1), 166-171.
- Tanaka, S., Sato, M., Onitsuka, T., Kamata, H. et Yokomizo, Y. (2005).** *Inflammatory cytokine gene expression in different types of granulomatous lesions during asymptomatic stages of bovine paratuberculosis.* Veterinary Pathology, **42** (5), 579-588.
- Tavornpanich, S., Gardner, I.A., Anderson, R.J., Shin, S., Whitlock, R.H., Fyock, T., Adaska, J.M., Walker, R.L. et Hietala, S.K. (2004).** *Évaluation of microbial culture of pooled fecal samples for detection of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis in large dairy herds.* American Journal of Veterinary Research, **65** (8), 1061-1070.
- Thorel, M.F. (2003).** *Paratuberculose.* In : Principales maladies animales infectieuses et parasitaires du bétail. Editions techniques et documentaires Lavoisier, **2**, 951-961.
- Tiwari, A., VanLeeuwen, J., McKenna, S.L.B., Keefe, G.P. et Barkema, H.W. (2006).** *Johne's disease in Canada Part I: clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis and prevalence in dairy herds.* Canadian Veterinary Journal, **47**, 874-882.
- Tiwari, A., VanLeeuwen, J.A., Dohoo, I.R., Stryhn, H., Keefe, G.P. et Haddad, J.P. (2005).** *Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum on culling in dairy cattle in four Canadian provinces.* Veterinary Microbiology, **109** (3-4), 147-158.
- Tysk, C., Lindberg, E., Jarnerot, G. et Floderus-Myrhed, B. (1988).** *Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking.* Gut, **29** (7), 990-996.
- Van Schaik, G., Kalis, C.H.J., Benedictus, G., Dijkhuizen, A.A. et Huirne, R.B.M. (1996).** *Cost-benefit analysis of vaccination against paratuberculosis in dairy cattle.* Veterinary Record, **139** (25), 624-627.
- Van Schaik, G., Schukken, Y.H., Crainiceanu, C., Muskens, J. et VanLeeuwen, J.A. (2003).** *Prevalence estimates for paratuberculosis adjusted for test variability using Bayesian analysis.* Preventive Veterinary Medicine, **60** (4), 281-295.

- Vanleeuwen, J.A., Keefe, G.P., Tremblay, R., Power, C. et Wichtel, J.J. (2001).** *Seroprevalence of infection with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhoea virus in maritime Canada dairy cattle.* Canadian Veterinary Journal, **42** (3), 195-198.
- Veazey, R.S., Horohov, D.W., Krahenbuhl, J.L., Taylor, H.W., Oliver III, J.L. et Snider III, T.G. (1995).** *Comparison of the resistance of C57BL/6 and C3H/He mice to infection with Mycobacterium paratuberculosis.* Veterinary Microbiology, **47** (1-2), 79-87.
- Vialard, J. (1994).** *Paratuberculose des ruminants: épidémiologie, diagnostic et prophylaxie.* Thèse de doctorat d'université, Université Claude Bernard, Lyon, France, 181 pages.
- Vialard, J. (2002a).** *Épidémiologie de la paratuberculose.* Bulletin des GTV Hors Série « Paratuberculose », 6-11.
- Vialard, J. (2002b).** *Les démarches de certification des cheptels dans le monde.* Bulletin des GTV Hors Série « Paratuberculose », 99-103.
- Waldner, C.L., Cunningham, G.L., Janzen, E.D. et Campbell, J.R. (2002).** *Survey of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis serological status in beef herds on community pastures in Saskatchewan.* Canadian Veterinary Journal, **43** (7), 542-546.
- Waters, W.R., Miller, J.M., Palmer, M.V., Stabel, J.R., Jones, D.E., Koistinen, K.A., Steadham, E.M., Hamilton, M.J., Davis, W.C. et Bannantine, J.P. (2003).** *Early induction of humoral and cellular immune responses during experimental Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection of calves.* Infection and Immunity, **71** (9), 5130-5138.
- Waters, W.R., Stabel, J.R., Sacco, R.E., Harp, J.A., Pesch, B.A. et Wannemuehler, M.J. (1999).** *Antigen-specific B-cell unresponsiveness induced by chronic Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection of cattle.* Infection and Immunity, **67** (4), 1593-1598.
- Weiss, D.J., Evanson, O.A., Deng, M. et Abrahamsen, M.S. (2004).** *Gene expression and antimicrobial activity of bovine macrophages in response to Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.* Veterinary Pathology, **41** (4), 326-337.
- Weiss, D.J., Evanson, O.A., McClenahan, D.J., Abrahamsen, M.S. et Walcheck, B.K. (2001).** *Regulation of expression of major histocompatibility antigens by bovine macrophages infected with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis or Mycobacterium avium subsp. avium.* Infection and Immunity, **69** (2), 1002-1008.
- Weiss, D.J., Souza, C.D., Evanson, O.A., Sanders, M. et Rutherford, M. (2008).** *Bovine monocyte TLR2 receptors differentially regulate the intracellular fate of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis and Mycobacterium avium subsp. avium.* Journal of Leukocyte Biology, **83** (1), 48-55.
- Wells, S.J. et Wagner, B.A. (2000).** *Herd-level risk factors for infection with Mycobacterium paratuberculosis in US dairies and association between familiarity of the herd manager with the disease or prior diagnosis of the disease in that herd and use of preventive measures.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **216** (9), 1450-1457.
- Wells, S.J., Whitlock, R.H., Wagner, B.A., Collins, J., Garry, F., Hirst, H., Lawrence, J., Saville, W.J.A. et Larew Naugle, A.L. (2002).** *Sensitivity of test strategies used in the Voluntary Johne's Disease Herd Status Program for detection of Mycobacterium paratuberculosis infection in dairy cattle herds.* Journal of the American Veterinary Medical Association, **220** (7), 1053-1057.
- Wentink, G.H., Bongers, J.H., Zeeuwen, A.A. et Jaartsveld, F.H. (1994).** *Incidence of paratuberculosis after vaccination against M. paratuberculosis in two infected dairy herds.* Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B, **41** (7-8), 517-522.
- Whipple, D.L. (1991).** *Prevalence and economic impact of paratuberculosis.* Third International Colloquium on Paratuberculosis, Orlando, USA, Editions International Association for Paratuberculosis, 382-389.
- Whitlock, R. (2002).** *Johne's disease (paratuberculosis).* In : Large animal internal medicine. Editions Mosby, 3ème édition, Saint Louis, USA. 779-783.
- Whitlock, R., Hutchinson, L.J. et Merkal, R.S. (1985).** *Prevalence and economic consideration of Johne's disease in the northeastern U.S.* Proceedings 89th Annual Meeting of the United States Animal Health Association, Milwaukee, WI, USA, 484-490.

- Whittington, R.J. et Sergeant, E. (2001).** *Progress towards understanding the spread, detection and control of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis in animal populations.* Australian Veterinary Journal, **79** (4), 267-278.
- Wilesmith, J.W. (1982).** *Johne's disease: a retrospective study of vaccinated herds in Great Britain.* British Veterinary Journal, **138** (4), 321-331.
- Wilson, D.J., Rossiter, C., Han, H.R. et Sears, P.M. (1993).** *Association of Mycobacterium paratuberculosis infection with reduced mastitis, but with decreased milk production and increased cull rate in clinically normal dairy cows.* American Journal of Veterinary Research, **54** (11), 1851-1857.
- Woo, S.-R., Heintz, J.A., Albrecht, R., Barletta, R.G. et Czuprynski, C.J. (2007).** *Life and death in bovine monocytes: the fate of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.* Microbial Pathogenesis, **43** (2), 106-113.
- Woo, S.-R., Sotos, J., Hart, A.P., Barletta, R.G. et Czuprynski, C.J. (2006).** *Bovine monocytes and a macrophage cell line differ in their ability to phagocytose and support the intracellular survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.* Veterinary Immunology and Immunopathology, **110** (1-2), 109-120.
- Wu, C.-W., Livesey, M., Schmoller, S.K., Manning, E.J.B., Steinberg, H., Davis, W.C., Hamilton, M.J. et Talaat, A.M. (2007).** *Invasion and persistence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis during early stages of Johne's disease in calves.* Infection and Immunity, **75** (5), 2110-2119.
- Zhao, B., Collins, M.T. et Czuprynski, C.J. (1997).** *Effects of gamma interferon and nitric oxide on the interaction of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis with bovine monocytes.* Infection and Immunity, **65** (5), 1761-1766.
- Zhao, B.Y., Czuprynski, C.J. et Collins, M.T. (1999).** *Intracellular fate of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in monocytes from normal and infected, interferon-responsive cows as determined by a radiometric method.* Canadian Journal of Veterinary Research, **63** (1), 56-61.

Création et mise en page : Parimage
Impression : Bialec, Nancy (France)
ISBN : 978-2-11-098835-5
Dépôt légal : juillet 2009
3 000 exemplaires

Photo de couverture : Gaël Kerbaol, Christophe Lepetit