



**HAL**  
open science

# Prophylaxie de la brucellose humaine : vers une vaccination ciblée de la faune sauvage ? Étude du cas des bouquetins du massif du Bargy

Matthieu Jouan

## ► To cite this version:

Matthieu Jouan. Prophylaxie de la brucellose humaine : vers une vaccination ciblée de la faune sauvage ? Étude du cas des bouquetins du massif du Bargy. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01331098

**HAL Id: dumas-01331098**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01331098v1>

Submitted on 13 Jun 2016

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

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

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES  
FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 2016

N°

**PROPHYLAXIE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE : VERS UNE  
VACCINATION CIBLÉE DE LA FAUNE SAUVAGE ?  
ÉTUDE DU CAS DES BOUQUETINS DU MASSIF DU BARGY**

THÈSE  
PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
DIPLOME D'ÉTAT

Matthieu JOUAN

*[Données à caractère personnel]*

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le lundi 6 juin 2016 à 17 heures 30

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Présidente du jury :

Madame le Professeur Murielle CORNET

Membres :

Monsieur le Professeur Emmanuel DROUET, Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Jean-Paul BRION

*La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

Doyen : SEVE Michel  
Vice-doyenne : DEMEILLIERS Christine

Année 2015-2016

ENSEIGNANTS A L'UFR DE PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

|              |                   |  |
|--------------|-------------------|--|
| BAKRI        | Aziz              | Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG) |
| BOUMENDJEL   | Ahcène            | Chimie Organique (D.P.M.)  |
| BURMEISTER   | Wim               | Biophysique (U.V.H.C.I)  |
| DECOU        | Jean-Luc          | Chimie Inorganique (D.P.M.)  |
| DROUET       | Christian         | Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)   |
| DROUET       | Emmanuel          | Microbiologie (U.V.H.C.I) -  |
| GODIN-RIBUOT | Diane             | Physiologie-Pharmacologie (HP2)  |
| LENORMAND    | Jean Luc          | Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)                                 |
| MARTIN       | Donald            | Laboratoire TIMC-IMAG (UMR 5525 UJF-CNRS)  |
| MOINARD      | <b>Christophe</b> | LABFA (U Inserm 1055)  |
| PEYRIN       | Eric              | Chimie Analytique (D.P.M.)   |
| RIBUOT       | Christophe        | Physiologie – Pharmacologie (HP2)  |
| WOESSIDJEW   | Denis             | Pharmacotechnie (D.P.M.)   |

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

|         |          |  |
|---------|----------|--|
| ALLENET | Benoit   | Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)       |
| CORNET  | Murielle | Parasitologie – Mycologie Médicale (THEREX, PU-PH) |
| DANEL   | Vincent  | Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)                    |
| FAURE   | Patrice  | Biochimie (HP2/PU-PH)                              |
| MOSSUZ  | Pascal   | Hématologie (PU-PH-THEREX-TIMC)                    |
| SEVE    | Michel   | Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)            |

PROFESSEURS EMERITES

|         |            |
|---------|------------|
| CALOP   | Jean       |
| GRILLOT | Renée      |
| ROUSSEL | Anne-Marie |

Dernière mise à jour : NM 16/02/2016

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 76 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 76 63 71 70

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

|                    |            |  |
|--------------------|------------|--|
| ALDEBERT           | Delphine   | Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)  |
| BATANDIER          | Cécile     | Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)   |
| BELAIDI-CORSAT     | Elise      | Pharmacologie Physiologie –(HP2)   |
| BOURGOIN           | Sandrine   | Biochimie – Biotechnologie (IAB)   |
| BRETON             | Jean       | Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)                           |
| BRIANCON-MARJOLLET | Anne       | Physiologie Pharmacologie (HP2)  |
| BUDAYOVA SPANO     | Monika     | Biophysique (I.B.S)  |
| CAVAILLES          | Pierre     | Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)                                 |
| CHOISNARD          | Luc        | Pharmacotechnie (D.P.M)  |
| DELETRAZ-DELPORTE  | Martine    | Droit Pharmaceutique<br>(Equipe SIS « Santé, Individu, Société »-EAM 4128) |
| DEMEILLIERS        | Christine  | Biochimie (L.B.F.A)  |
| DURMORT-MEUNIER    | Claire     | Biotechnologies (I.B.S)  |
| GEZE               | Annabelle  | Pharmacotechnie (D.P.M)  |
| GILLY              | Catherine  | Chimie Thérapeutique (D.P.M)   |
| GROSSET            | Catherine  | Chimie Analytique (D.P.M)  |
| GUIEU              | Valérie    | Chimie Analytique (D.P.M)  |
| HININGER-FAVIER    | Isabelle   | Biochimie (L.B.F.A)  |
| JOYEUX-FAURE       | Marie      | Physiologie - Pharmacologie (HP2)  |
| KHALEF             | Nawel      | Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)  |
| KRIVOBOK           | Serge      | Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)                                   |
| MELO DE LIMA       | Christelle | Biostatistiques (L.E.C.A)  |
| MOUHAMADOU         | Bello      | Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)                                  |
| NICOLLE            | Edwige     | Chimie Thérapeutique (D.P.M)   |
| OUKACINE           | Farid      | Chimie Thérapeutique (D.P.M)   |
| PERES              | Basile     | Pharmacognosie (D.P.M)   |
| PEUCHMAUR          | Marine     | Chimie Organique (D.P.M.)  |
| RACHIDI            | Walid      | Biochimie (L.C.I.B)  |
| RAVELET            | Corinne    | Chimie Analytique (D.P.M)  |
| SOUARD             | Florence   | Pharmacognosie (D.P.M)   |
| TARBOURIECH        | Nicolas    | Biophysique (U.V.H.C.I.)   |
| VANHAVERBEKE       | Cécile     | Chimie (D.P.M)   |

**MAITRES DE CONFERENCE DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS**

|                |           |  |
|----------------|-----------|--|
| <b>BEDOUCH</b> | Pierrick  | Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH) |
| <b>BUSSER</b>  | Benoit    | Pharmacie (IAB-INSERM)                       |
| <b>GERMI</b>   | Raphaëlle | Microbiologie (U.V.H.C.I)                    |

**PROFESSEURS CERTIFIES**

|                |          |
|----------------|----------|
| <b>FITE</b>    | Andrée   |
| <b>GOUBIER</b> | Laurence |

**PROFESSEURS ET MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES (PAST/MAST)**

|                 |          |  |
|-----------------|----------|--|
| <b>BELLET</b>   | Béatrice | Pharmacie Clinique                           |
| <b>RIEU</b>     | Isabelle | Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)       |
| <b>TROILLER</b> | Patrice  | Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU) |

**PROFESSEURS AGREGES (PRAG)**

|                 |               |         |
|-----------------|---------------|---------|
| <b>GAUCHARD</b> | Pierre-Alexis | (D.P.M) |
|-----------------|---------------|---------|

---

« Ô douleur ! ô douleur ! Le Temps mange la vie,  
Et l'obscur Ennemi qui nous ronge le cœur  
Du sang que nous perdons croît et se fortifie ! »

Charles Baudelaire, *Les Fleurs du Mal*.

## REMERCIEMENTS

Je remercie le **Professeur Emmanuel DROUET** de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité, la qualité de votre écoute et vos précieux conseils.

Je remercie le **Professeur Murielle CORNET** de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de la soutenance de cette thèse.

Je remercie le **Docteur Jean-Paul BRION** de m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer au jury de la soutenance de cette thèse.

*C'est sans doute par cette thèse que s'achève mon cursus scolaire. Malgré ces milliers d'heures d'enfermement forcé, malgré ces milliers d'heures qui m'ont séparé du soleil, je ne suis pas rancunier, et remercie l'École publique qui, de l'alphabet aux principes de la biochimie, des lois de la gravité aux origines de l'inégalité, m'a tant fait voyager. Je n'oublierai pas tous ces instituteurs et tous ces professeurs qui, de la Maternelle à l'Université, m'ont donné l'envie d'apprendre.*

*C'est sans doute par cette thèse que s'achève un chapitre de ma jeunesse (peut-être pas le dernier). J'adresse donc mes remerciements à toutes ces personnes qui ont donné de la beauté à ce chapitre : à ma généreuse famille, à mes affectueux grands-parents, à la Béarnaise, à mes formidables frères, à mon père bienveillant et à ma mère si attentionnée ; à mes amis, à tous mes amis, d'hier et d'aujourd'hui, des cimes et des vallées, des routes et des sentiers, des grandes nuits étoilées et des petits matins glacés ; à ma merveilleuse compagne qui a accepté, sans (trop) sourciller, que je passe de nombreuses soirées et de nombreux week-ends ensoleillés seul avec *Brucella*.*

*C'est sans doute par cette thèse que s'élance véritablement ma vie professionnelle. J'en profite donc pour remercier mes employeurs, mes généreux collègues de travail, d'hier et d'aujourd'hui, et tous ces patients si attachants qui m'ont fait découvrir et aimer le métier de pharmacien d'officine.*

# TABLE DES MATIÈRES

|             |   |           |
|-------------|---|-----------|
| <b>I.</b>   | <b>INTRODUCTION : UN ENJEU D'ACTUALITÉ</b> .....                                | <b>11</b> |
| <b>II.</b>  | <b>HISTORIQUE DE LA DÉCOUVERTE DE LA BRUCELLOSE</b> .....                       | <b>13</b> |
| <b>III.</b> | <b>LA BRUCELLOSE, UNE ZOONOSE</b> .....   | <b>15</b> |
|             | III.1) Définition d'une zoonose .....   | 15        |
|             | III.2) Les différents types de zoonoses .....                                   | 15        |
|             | III.3) Cycle épidémio-écologique d'une zoonose.....                             | 16        |
|             | III. 4) Caractéristiques zoonotiques de la brucellose.....                      | 18        |
|             | III. 5) Les différentes espèces de <i>Brucella</i> et leur(s) réservoir(s)..... | 20        |
| <b>IV.</b>  | <b>BRUCELLOSE : MODES DE CONTAMINATION HUMAINE ET PRÉVENTION DIRECTE</b> .....  | <b>24</b> |
|             | IV.1) Les différents modes de contamination.....                                | 24        |
|             | IV.2) Les professionnels exposés à la contamination directe.....                | 26        |
|             | IV.2.a) Le personnel de laboratoire .....                                       | 26        |
|             | IV.2.b) Les agriculteurs, les bergers, les bouchers et les vétérinaires .....   | 27        |
|             | IV.3) Contamination alimentaire .....   | 28        |
|             | IV.3.a) Le lait cru et ses produits dérivés .....                               | 28        |
|             | IV.3.b) La pasteurisation.....  | 30        |
| <b>V.</b>   | <b>LA BRUCELLOSE HUMAINE : « MALADIE AUX CENT VISAGES »</b> .....               | <b>31</b> |
|             | V.1) Pouvoir pathogène humain des différentes espèces de <i>Brucella</i> .....  | 31        |
|             | V.2) <i>Brucella</i> , agent biologique pathogène du groupe 3 .....             | 32        |
|             | V.3) <i>Brucella</i> , arme biologique potentielle .....                        | 33        |
|             | V.4) Suivi d'une maladie à déclaration obligatoire .....                        | 34        |
|             | V.5) Épidémiologie de la brucellose humaine en France .....                     | 35        |
|             | V.6) Épidémiologie de la brucellose dans le monde .....                         | 37        |
|             | V.7) Physiopathologie de la brucellose humaine .....                            | 40        |
|             | V.8) Aspects cliniques et biologiques de la brucellose humaine.....             | 42        |

|   |           |
|---|-----------|
| V.9) Traitement.....  | 45        |
| V.9.a) Sensibilité de <i>Brucella</i> aux antibiotiques.....  | 45        |
| V.9.b) Modes d'action des différents antibiotiques .....  | 46        |
| V.9.c) Protocoles thérapeutiques préconisés .....   | 47        |
| 1) Traitement d'une brucellose aiguë non focalisée .....  | 47        |
| 2) Traitement d'une brucellose focalisée .....  | 49        |
| V.9.d) Précautions d'emploi, interactions et contre-indications.....  | 49        |
| V.10) Prophylaxie de la brucellose humaine .....  | 51        |
| V.10.a) La vaccination humaine, une piste abandonnée ?.....   | 51        |
| V.10.b) Maîtrise de la brucellose animale .....   | 52        |
| <br>  |           |
| <b>VI. TESTS DE DÉPISTAGE DE LA BRUCELLOSE .....</b>  | <b>53</b> |
| VI.1) Le dépistage direct .....   | 53        |
| VI.1.a) Caractéristiques bactériologiques de <i>Brucella</i> .....  | 53        |
| VI.1.b) Mise en culture et identification bactérienne.....  | 55        |
| VI.1.c) L'amplification génique par PCR.....  | 56        |
| VI.2) Le dépistage indirect .....   | 57        |
| VI.2.a) Principe .....  | 57        |
| VI.2.b) Séroagglutination de Wright (SAW).....  | 58        |
| VI.2.c) Épreuve de l'antigène tamponné (EAT).....   | 59        |
| VI.2.d) Méthode immuno-enzymatique : ELISA .....  | 59        |
| VI.2.e) Dépistage laitier .....   | 60        |
| VI.3) Tableaux récapitulatifs .....   | 60        |
| <br>  |           |
| <b>VII. HISTORIQUE DE LA LUTTE CONTRE LA BRUCELLOSE EN FRANCE .....</b>   | <b>61</b> |
| VII.1) La France non indemne de brucellose chez les suidés.....   | 61        |
| VII.2) 1970 – 2005, une lutte efficace conduisant à « l'éradication » de la<br>brucellose bovine, ovine et caprine..... | 62        |
| VII.2.a) Prophylaxie médicamenteuse : la vaccination.....   | 62        |
| VII.2.b) Prophylaxie sanitaire : surveillance clinique événementielle .....   | 64        |
| VII.2.c) Prophylaxie sanitaire : surveillance sérologique programmée.....   | 65        |
| VII.2.d) À l'étranger : des méthodes alternatives ? L'antibiothérapie .....   | 67        |
| VII.2.e) Importance du statut <i>officiellement indemne de brucellose</i> .....   | 68        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>VIII. 2012 – 2016, DÉCOUVERTE ET GESTION D’UN RÉSERVOIR PRIMAIRE</b>                        |           |
| <b>DE <i>B. MELITENSIS</i> DANS LA FAUNE SAUVAGE .....</b>                                     | <b>71</b> |
| VIII.1) Contexte de la découverte d’un foyer de brucellose en Haute-Savoie .....               | 71        |
| VIII.2) Le bouquetin, un réservoir atypique de <i>Brucella</i> .....                           | 73        |
| VIII.2.a) Un réservoir inédit chez les ongulés de montagne.....                                | 73        |
| VIII.2.b) Un animal sauvage difficile à étudier .....  | 74        |
| VIII.2.c) Un animal dont la gestion est conditionnée par la loi.....                           | 76        |
| VIII.2.d) Raisons historiques de la protection du bouquetin .....                              | 76        |
| VIII.3) Modes de contamination intra- et inter-espèces .....                                   | 78        |
| VIII.3.a) Transmission de bouquetin à bouquetin .....  | 78        |
| VIII.3.b) Risque de transmission aux autres espèces.....                                       | 79        |
| VIII.3.c) Mesures de biosécurité.....  | 82        |
| VIII.4) Gestion de l’épizootie : la vaccination, une nécessité ? .....                         | 83        |
| VIII.4.a) Surveillance sanitaire et abattages de 2013 .....                                    | 83        |
| VIII.4.b) Conséquences épidémiologiques des abattages de 2013 .....                            | 84        |
| VIII.4.c) 2015 : les scénarios de gestion proposés par l’ANSES .....                           | 86        |
| VIII.4.d) Des choix de gestion qui divisent .....  | 87        |
| <br>   |           |
| <b>IX. VACCINATION ET IMMUNOLOGIE : NOTIONS DE BASE .....</b>                                  | <b>89</b> |
| IX.1) La vaccination : définition et objectifs.....  | 89        |
| IX.2) La vaccination : rappels historiques .....   | 90        |
| IX.3) Immunité innée et immunité adaptative .....  | 91        |
| IX.4) Caractéristiques de la réponse immunitaire vis-à-vis de <i>Brucella</i> .....            | 93        |
| IX.5) La mémoire immunitaire : fondement de la vaccination.....                                | 95        |
| IX.6) Réponse sérologique classique à la vaccination.....                                      | 96        |
| IX.7) Les différents types de vaccins .....  | 97        |
| <br>   |           |
| <b>X. VACCINATION DE LA FAUNE SAUVAGE CONTRE DES ZONOSSES :</b>                                |           |
| <b>EXEMPLES DE LA RAGE ET DE LA TUBERCULOSE.....</b>   | <b>99</b> |
| X.1) Vaccination des renards contre la rage : une réussite.....                                | 99        |
| X.2) Vaccination contre la tuberculose à <i>Mycobacterium bovis</i> .....                      | 101       |
| X.2.a) <i>M. bovis</i> et <i>Brucella</i> : analogies zoonotiques.....                         | 101       |
| X.2.b) Le BCG, un vaccin humain .....  | 104       |
| X.2.c) Expérimentations du BCG sur la faune sauvage.....                                       | 105       |
| X.2.d) Lutte contre <i>Mycobacterium</i> et <i>Brucella</i> : analogies pharmacologiques ..... | 106       |

|  |            |
|--|------------|
| <b>XI. VACCINATION ANTI-BRUCELLIQUE DE LA FAUNE : BASES ET HISTORIQUE .....</b>                          | <b>108</b> |
| XI.1) Les vaccins anti-brucelliques destinés aux animaux.....  | 108        |
| XI.1.a) Les souches vaccinales les plus utilisées.....   | 108        |
| XI.1.b) Innocuité des vaccins anti-brucelliques.....   | 109        |
| XI.1.c) Efficacité chez l'animal des vaccins anti-brucelliques.....                                      | 110        |
| XI.1.d) Interférences avec le dépistage sérologique .....  | 111        |
| XI.2) Historique de la vaccination anti-brucellique de la faune sauvage .....                            | 111        |
| <br>   |            |
| <b>XII. VERS UNE VACCINATION DES BOUQUETINS DU MASSIF DU BARGY ?.....</b>                                | <b>114</b> |
| XII.1) Transposition des expérimentations américaines au massif du Bargy.....                            | 114        |
| XII.2) Vaccination de la chèvre : un savoir transposable aux bouquetins ?.....                           | 115        |
| XII.2.a) Proximité phylogénétique de la chèvre et du bouquetin .....                                     | 115        |
| XII.2.b) Vaccination par Rev. 1 de la chèvre .....   | 116        |
| XII.3) Discussion autour de la mise en place d'un programme de vaccination des bouquetins du Bargy ..... | 121        |
| XII.3.a) Intérêts d'une expérimentation vaccinale.....   | 121        |
| XII.3.b) Expérimentation sur le terrain : quels dangers ? .....  | 124        |
| XII.3.c) Quel mode d'administration choisir ? .....  | 126        |
| XII.3.d) Population cible.....   | 127        |
| XII.3.e) Spécialités pharmaceutiques disponibles .....   | 129        |
| <br>   |            |
| <b>CONCLUSION.....</b>   | <b>130</b> |
| <b>LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES .....</b>   | <b>132</b> |
| <b>GLOSSAIRE.....</b>  | <b>134</b> |
| <b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>   | <b>136</b> |
| <b>SERMENT DE GALIEN .....</b>   | <b>151</b> |

## I. INTRODUCTION : UN ENJEU D'ACTUALITÉ

La brucellose est une infection touchant l'homme et plusieurs espèces animales, autrement dit une zoonose. Elle est causée par une bactérie dont le genre nommé *Brucella* se divise en plusieurs espèces. En Europe, *Brucella melitensis* et *Brucella abortus* sont les souches les plus pathogènes pour l'homme. *B. melitensis* est principalement détectée dans les troupeaux de chèvres et de moutons, *B. abortus* dans les troupeaux de bovins. Chez les animaux, *Brucella* est à l'origine d'avortements, et peut avoir un impact sur la fertilité des cheptels. Chez l'homme, ces bactéries peuvent induire une maladie aiguë caractérisée par une fièvre ondulante, évoluant parfois vers des complications chroniques et invalidantes.

L'humain se contamine par les animaux d'une façon plus ou moins directe : par la consommation de lait cru, de viande peu cuite ou par contact avec le bétail... La prévalence humaine de cette pathologie est donc essentiellement dépendante de l'ampleur de l'infection dans les élevages. Plutôt méconnue du grand public, la brucellose touche, dans le monde, environ 500 000 nouvelles personnes chaque année (contre approximativement 8,8 millions pour la tuberculose).<sup>(98, 109)</sup>

Dans les pays les plus affectés, 25 % des troupeaux bovins sont contaminés, et 200 cas de brucellose humaine pour 100 000 habitants sont déclarés chaque année ; soit en zone de forte endémie une incidence humaine du même ordre que celle de la tuberculose en Afghanistan ou au Bangladesh.<sup>(8, 23, 24)</sup>

À l'instar des USA, du Canada ou du Japon, des pays ont mobilisé d'importantes ressources économiques pour mettre en place une surveillance drastique des troupeaux, combinée à un programme de vaccination vétérinaire. Grâce à ces méthodes, alors que quarante ans plus tôt, près de 50 % des cheptels bovins français étaient touchés par la

maladie, la France devient officiellement indemne de brucellose bovine en 2005. <sup>(67, 71, 147)</sup> Depuis cette date, tous les cas de brucellose humaine signalés sur le territoire sont imputables à des bactéries importées de pays étrangers... <sup>(5)</sup>

Jusqu'à ce qu'en 2012, un médecin diagnostique une brucellose chez un jeune garçon, contaminé suite à la consommation d'un fromage au lait cru issu d'un troupeau bovin du massif alpin du Bargy, en Haute-Savoie. Des investigations sont menées sur la faune alentour pour comprendre l'origine de l'infection. Il en ressort que le cheptel bovin a vraisemblablement été contaminé par un ongulé sauvage plutôt inattendu : le bouquetin des Alpes (espèce réintroduite et protégée). <sup>(114, 146)</sup> 35 % des bouquetins du massif se révèlent séropositifs. <sup>(42)</sup> Insoupçonnée jusqu'alors, cette importante épizootie pourrait conduire à une propagation de la brucellose dans un pays qui avait réussi à s'en débarrasser. Se pose alors la question épineuse de l'éradication de ce réservoir primaire de *Brucella*.

Après des campagnes d'abattages d'efficacité modérée, un recours à la vaccination du bouquetin est évoqué par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire. <sup>(46)</sup> D'où la problématique de cette thèse : utilisée avec succès sur les troupeaux domestiques, la technologie vaccinale peut-elle contribuer à la maîtrise d'une zoonose en milieu sauvage, et *a fortiori*, prévenir une résurgence de la brucellose humaine en France ?

L'enjeu de cette question dépasse le cadre des bouquetins de la Haute-Savoie puisque de nombreuses épizooties sont observées dans la faune sauvage à travers le monde, dont certaines peuvent constituer un danger pour la santé humaine.

## II. HISTORIQUE DE LA DÉCOUVERTE DE LA BRUCELLOSE

La brucellose a des racines historiques lointaines que nous n'aurons sans doute jamais fini d'explorer. Ainsi, des recherches paléontologiques suggèrent qu'en Afrique, un australopithèque, dont le squelette est vieux de plus de deux millions d'années, était déjà atteint d'une déformation vertébrale brucellique...<sup>(105)</sup> Avant le début de l'Antiquité, la brucellose infectait des êtres humains en Égypte, en Jordanie et en Palestine... L'expansion de la maladie dans ces pays semble coïncider avec l'apparition de la domestication des moutons et des chèvres.<sup>(25, 105)</sup>

À Herculaneum et Pompéi, villes romaines qui furent recouvertes par une gangue volcanique suite à l'éruption du Vésuve en 79 après J.-C., l'analyse des restes d'un fromage a permis d'observer (au microscope électronique à balayage) de probables traces de *Brucella*. Des fouilles ont révélé que sur une ancienne plage d'Herculaneum, environ 17 % des squelettes retrouvés présentaient des signes de brucellose osseuse (spondylite brucellienne).<sup>(104, 105)</sup> L'analyse ADN d'ossements démontre qu'au Moyen Âge, la brucellose touchait des humains en Albanie, en Espagne et en Norvège... L'Amérique était *a priori* indemne de brucellose au moins jusqu'en 1492 ; et c'est vraisemblablement l'introduction d'animaux provenant d'Europe qui est à l'origine de l'apparition de la brucellose sur le continent outre-Atlantique.<sup>(25)</sup>

En 1859, Allen Jeffery Marston décrit cliniquement une maladie fiévreuse sévissant sur la petite île de Malte. À la même époque, des scientifiques assimilent, pour la première fois, certains micro-organismes à des agents infectieux, notamment grâce aux travaux de Louis Pasteur. Quelques années plus tard, les rates de soldats décédés suite à l'étrange « fièvre de Malte » sont étudiées par David Bruce. Le scientifique en isole un agent infectieux qu'il nomme *Micrococcus melitensis*. À la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, cette

maladie est décrite dans de nombreux autres pays du bassin méditerranéen, et prend des dénominations variables telles que fièvre de Constantinople, fièvre de Crète ou encore fièvre de Gibraltar. <sup>(1, 3)</sup>

En 1905, Themistocles Zammit, un bactériologiste maltais, est le premier à comprendre, d'une part, que la chèvre est un réservoir de *Micrococcus melitensis* ; d'autre part, que cette bactérie peut se transmettre de la chèvre à l'homme par la consommation de lait. Le caractère zoonotique de la brucellose est ainsi mis en lumière. <sup>(106)</sup>

Parallèlement, le Danois Bernhard Bang étudie des avortons bovins, et en isole une nouvelle bactérie, qu'il nomme *Bacille abortus*. En 1917, Alice Evans, bactériologiste américaine, met en lien *M. melitensis* et *B. abortus*, et propose la création du genre *Brucella* en l'honneur des travaux de David Bruce. <sup>(1, 3)</sup>

Tout au long du XX<sup>e</sup> siècle, de nombreuses espèces de *Brucella* sont identifiées, souvent suite à des avortements de femelles. En 1914, *Brucella suis* est isolée chez des porcins ; en 1953, *Brucella ovis* chez des moutons ; en 1957, *Brucella neotomae* chez des rats du désert de l'Utah (USA) ; en 1966, *Brucella canis* chez des chiens ; en 1994, *Brucella cetaceae* chez des dauphins, puis *Brucella pinnipediae* chez des phoques. <sup>(1, 3,</sup>

25, 136)

### III. LA BRUCELLOSE, UNE ZOONOSE

#### III.1) Définition d'une zoonose

Une zoonose est une infection ou une infestation qui se transmet naturellement des animaux vertébrés à l'homme, et *vice versa*.<sup>(4, 32)</sup>

Les zoonoses excluent donc les infections qui sont propres à l'homme (comme la fièvre typhoïde et la rougeole) et les infections qui sont propres à l'animal (comme la peste bovine et la myxomatose). Lorsque la transmission de l'agent pathogène s'effectue exclusivement de l'animal à l'homme, on parle plus précisément de zooanthroponose. L'homme peut, lui aussi, transmettre certaines infections à la faune : la tuberculose aux bovins, par exemple.<sup>(30)</sup>

Le cycle épidémiologique d'une zoonose peut être très complexe, et peut faire intervenir plusieurs vecteurs et diverses espèces animales réceptives. Dans la grande majorité des cas, le rôle de l'homme dans le cycle d'une zoonose n'est qu'accidentel.<sup>(150)</sup>

#### III.2) Les différents types de zoonoses

En 2010, l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) estime que parmi les 1415 agents pathogènes recensés chez l'homme, 61 % peuvent être à l'origine de zoonoses.<sup>(4)</sup>

Différents types d'agents infectieux sont en cause : principalement des bactéries, des parasites et des virus. La tuberculose à *Mycobacterium bovis*, la tularémie et la brucellose sont des zoonoses bactériennes. L'échinococcose et la toxoplasmose sont des zoonoses parasitaires.

La gravité médicale des zoonoses est très variable. La rage, zoonose virale, est systématiquement mortelle dès qu'elle se déclare.<sup>(30)</sup> À l'inverse, la maladie des

griffes du chat, zoonose bactérienne provoquée par *Bartonella henselae*, est généralement bénigne. <sup>(31)</sup>

On parle de zoonose apparente lorsqu'une infection s'exprime cliniquement chez l'homme et l'animal. Si les symptômes sont voisins chez l'homme et l'animal, une zoonose est qualifiée d'isosymptomatique (exemple : la rage). Par contre, si les symptômes sont différents chez l'homme et l'animal, une zoonose est dite anisymptomatique. <sup>(30)</sup> Lorsqu'une maladie est cliniquement silencieuse chez l'animal, la zoonose est qualifiée d'inapparente. À l'instar de la tularémie chez le lièvre, l'homme peut alors être le révélateur d'une zoonose. <sup>(30)</sup>

Nous verrons que l'épizootie de brucellose des bouquetins du massif du Bargy peut être assimilée à une zoonose anisymptomatique inapparente dont l'homme a été le révéléteur.

### III.3) Cycle épidémiologique d'une zoonose

Lorsqu'une espèce animale hôte suffit à l'entretien d'un agent pathogène, cette espèce est qualifiée de **réservoir primaire**. En l'absence de réservoir primaire, un agent pathogène peut se maintenir temporairement, mais non pas d'une manière indéfinie, dans un **réservoir secondaire**. En conséquence, l'éradication d'un réservoir primaire entraîne théoriquement la disparition du ou des réservoir(s) secondaire(s). <sup>(97)</sup>

Une espèce animale pouvant être contaminée par une zoonose, et ne pouvant pas transmettre l'agent infectieux à d'autres animaux est qualifiée d'**impasse** ou de **cul-de-sac épidémiologique**. <sup>(30)</sup>

Le statut épidémiologique d'une espèce hôte peut varier d'une population à l'autre, et dépend de facteurs environnementaux (topographie, hydrographie),

écologiques (contacts avec d'autres espèces), démographiques... Sous une certaine densité de population, une espèce peut ainsi être réservoir secondaire ; et devenir réservoir primaire au-dessus d'un certain seuil de densité. <sup>(145)</sup>

Il existe plusieurs modèles de cycles épidémiologiques de zoonoses. Dans le cas de l'**ortho**zoonose (ou zoonose directe), l'agent infectieux peut proliférer à l'intérieur d'une seule espèce vertébrée, puis être accidentellement transmis à l'homme ou à une autre espèce. <sup>(30)</sup>

L'entretien de l'agent responsable d'une **cyclozoonose** nécessite impérativement plusieurs espèces de vertébrés, dont l'une transmet la maladie à l'homme. À titre d'exemple, les ténias du genre *Echinococcus* infestent des hôtes intermédiaires (herbivores tels que les moutons) et des hôtes définitifs (renards, chiens). Ce sont généralement les canidés qui transmettent à l'homme ce parasite à l'origine de la maladie nommée échinococcose. <sup>(30, 49)</sup>

Les **métazoonoses** nécessitent le passage de l'agent infectieux par un invertébré (moustique, pou, tique) qui transmet la maladie à l'homme. La borréliose et les rickettsioses en sont des illustrations. <sup>(30)</sup>

Certaines zoonoses ont des cycles complexes « multi-hôtes » qui varient en fonction des conditions écologiques du milieu. C'est, par exemple, le cas de la tularémie, maladie sévère provoquée par *Francisella tularensis*, affectant environ 250 espèces animales. En France, cette bactérie peut être transmise à l'homme soit par contact direct avec un lièvre (ce qui est fréquent chez les chasseurs) soit par la morsure d'une tique. En outre, la bactérie circule activement chez les petits mammifères, qui peuvent contaminer d'autres espèces par leurs excréments ou par l'intermédiaire de tiques. (En France, l'incidence annuelle moyenne de la tularémie

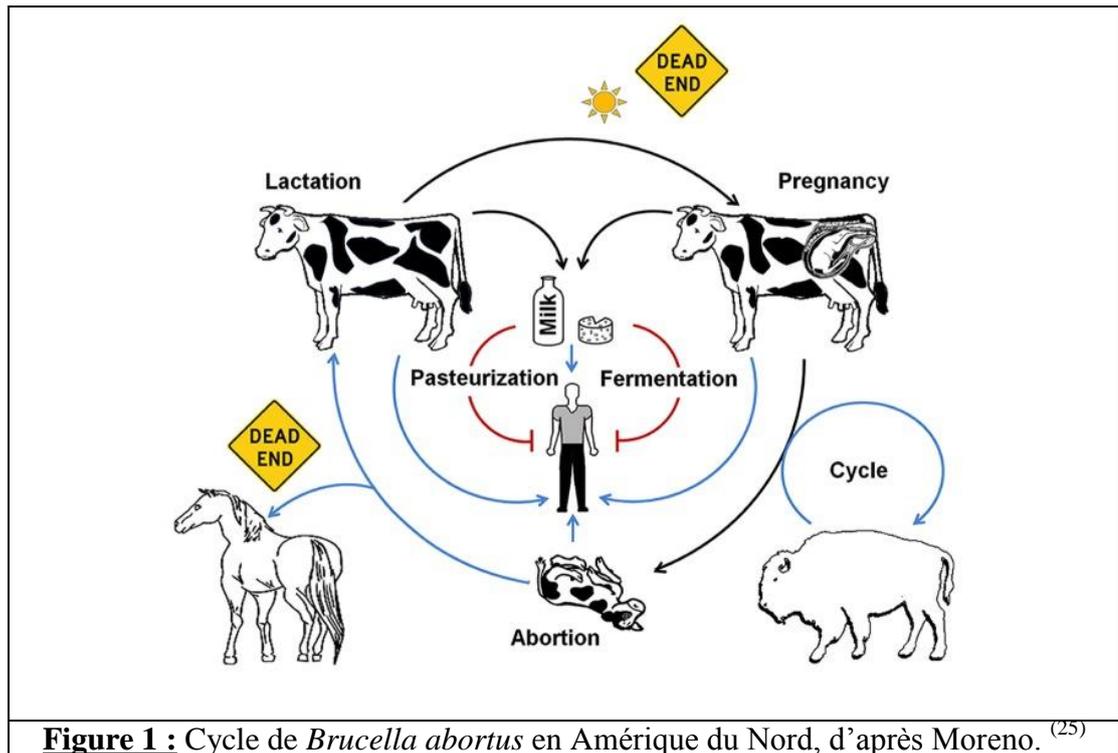
est, chez l'humain, du même ordre que celle de la brucellose : un peu moins d'un cas pour un million d'habitants.)<sup>(5, 30, 143)</sup>

Certaines zoonoses s'adaptent à d'éventuelles modifications écologiques en « changeant de visage ». Ainsi, en Europe, la rage était, au début XX<sup>e</sup> siècle, une maladie véhiculée essentiellement en milieu urbain, par le chien. Cette forme de rage a progressivement disparu grâce à l'application de mesures sanitaires et vaccinales. Puis, à partir des années 1950, une autre forme épidémiologique de rage a pris « le relais » : la rage sylvatique, qui circule essentiellement chez le renard. Cette forme de rage a, à son tour, été éradiquée dans de nombreux pays grâce à de larges campagnes vaccinales (cf. X.1). Puis, à partir des années 1985, ce sont les chauves-souris qui sont devenues le principal réservoir de la rage en France...<sup>(88, 90, 150)</sup>

La situation épidémiologique des zoonoses n'est donc pas figée dans le temps et dans l'espace, et peut être modifiée, parfois de façon imprévisible, par l'action de l'homme.<sup>(150)</sup> À ce titre, l'accroissement de la superposition des territoires des cheptels domestiques et des domaines vitaux des espèces sauvages favorise l'émergence et l'amplification de zoonoses.<sup>(145)</sup>

### **III. 4) Caractéristiques zoonotiques de la brucellose**

Une seule espèce animale suffit à l'entretien du cycle de *Brucella* (bactérie que nous nommerons aussi brucelle). Bien que possible, la transmission à d'autres espèces animales n'est pas nécessaire à la survie des brucelles. En somme, pour que le cycle soit entretenu, une brucelle est excrétée par son hôte, puis rencontre un nouvel hôte animal, soit de la même espèce soit d'une autre espèce.



**Figure 1 :** Cycle de *Brucella abortus* en Amérique du Nord, d'après Moreno. <sup>(25)</sup>

En Amérique du Nord, les bovins constituent le réservoir primaire habituel de *Brucella abortus*. La bactérie est essentiellement excrétée dans le lait et dans les produits d'avortement des vaches. Un veau consommant le lait de sa mère peut se contaminer à son tour, tout comme une vache située dans l'environnement d'un avorton. Le cycle de *Brucella abortus* peut ainsi se limiter aux bovins, d'où la qualification d'*orthozoonose*. Mais la bactérie sort parfois « accidentellement » de ce cycle. Ainsi, une vache peut être approchée par un bison, autre boviné, et lui transmettre, par contact plus ou moins direct, la bactérie. Les bisons peuvent alors devenir *réservoir secondaire* de brucellose ; parfois même, comme dans le Yellowstone, *réservoir primaire*.<sup>(84, 87)</sup> D'autres espèces animales peuvent occasionnellement évoluer dans un environnement souillé par *Brucella*, puis développer la maladie. Les chevaux sont ainsi susceptibles de se contaminer en paissant l'herbe près d'un avorton « brucellique » de bovin...

Quant à l'homme, il s'infecte principalement soit en consommant du lait soit en évoluant dans un environnement contaminé. L'homme ne peut *a priori* pas contaminer d'autres individus, car une fois infecté, il excrète très peu de bactéries. N'entretenant pas le cycle de la brucellose, l'humain forme une *impasse épidémiologique* pour toutes les espèces de *Brucella*.<sup>(1, 2, 25)</sup>

En Haute-Savoie, dans le massif du Bargy, le cycle de *Brucella melitensis* est semblable au cycle de la figure 1 : le bison serait à remplacer par un bouquetin, et le cheval par un chamois. Ainsi, en 1999, un élevage mixte de bovins, ovins et caprins constituait le réservoir principal de la bactérie, à partir duquel des bouquetins se sont probablement contaminés. Les bouquetins auraient alors progressivement formé un réservoir primaire de *Brucella*... à l'origine d'une re-contamination des bovins (cf. VIII.1).<sup>(42, 146)</sup>

Comme nous allons le voir, chaque espèce de *Brucella* a un cycle épidémiologique caractéristique.

### **III. 5) Les différentes espèces de *Brucella* et leur(s) réservoir(s)**

Répartie à travers les cinq continents et deux océans du globe terrestre, *Brucella* est « une grande famille » de bactéries, divisée en plusieurs espèces, pouvant elles-mêmes se subdiviser en plusieurs biovars. Chaque espèce a un ou plusieurs réservoirs animaux préférentiels (tous mammifères), une répartition géographique caractéristique, et est plus ou moins pathogène pour l'homme. Les six principales espèces de *Brucella* sont : *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* et *B. neotomae*.<sup>(1, 3, 56)</sup>

Les principaux réservoirs de ces espèces sont :

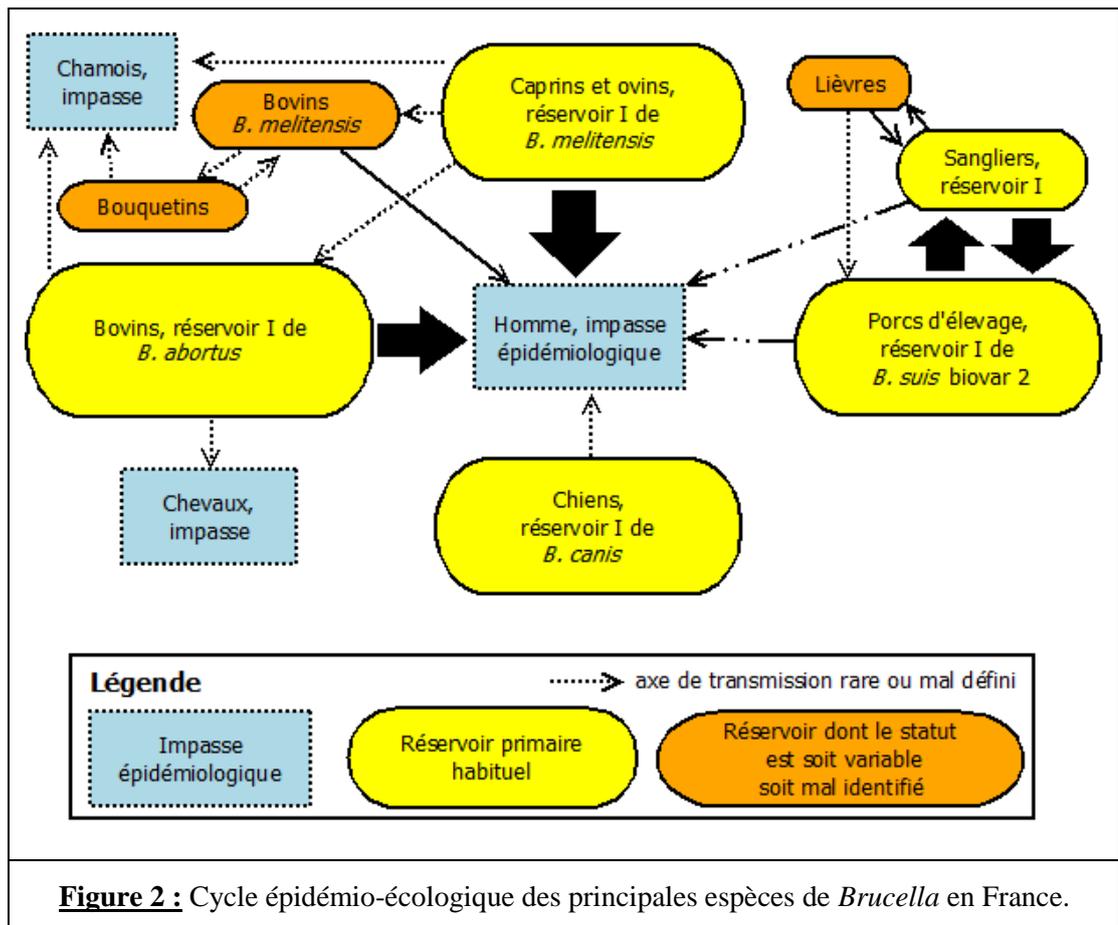
- le chien pour *B. canis*,
- les ovins du bassin méditerranéen pour *B. ovis*,
- les rats du désert de l'Utah (USA) pour *B. neotomae*,
- les bovins pour *B. abortus*,
- les ovins et les caprins pour *B. melitensis*.<sup>(1, 3, 56, 71)</sup>

*B. melitensis* est retrouvée principalement dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient. *B. abortus* et *B. canis* sont ubiquitaires.<sup>(1)</sup> *B. ovis* provoque l'épididymite contagieuse du bélier.<sup>(71)</sup>

Quant à *Brucella suis*, ses réservoirs animaux habituels sont très différents d'un biovar à l'autre, ce sont :

- les suidés (sangliers, porcins) pour les biovars 1 et 3,
- les suidés et les lièvres d'Europe pour le biovar 2,
- les rennes et les caribous des régions arctiques pour le biovar 4,
- les rongeurs sauvages de Russie pour le biovar 5.<sup>(1, 3)</sup>

Au-delà de ces réservoirs habituels, le spectre du pouvoir pathogène des différentes espèces de brucelles est très large. Chaque espèce peut infecter marginalement des hôtes moins spécifiques. À titre d'exemple, *Brucella abortus* est loin de « se cantonner » aux bovins, et a déjà été détectée chez des ovins, des caprins, des rennes, des bisons, des zébus, des buffles, des cerfs, des chamois, des sangliers, des chevaux, des chiens, des rongeurs, etc.<sup>(1, 2, 30, 70)</sup>



Le rôle de certaines espèces animales dans l'épidémiologie de la brucellose est mal connu. Ainsi, *Brucella melitensis* a récemment été isolée chez des poissons-chats dans le delta du Nil. Évoluant dans un fleuve souillé par des ruminants infectés, ces poissons d'eau douce auraient localement un rôle de réservoir, et seraient une source potentielle d'infection pour les autres espèces. <sup>(154)</sup>

Dans les années 1990, des souches de *Brucella* ont été isolées chez des mammifères marins. Elles sont nommées ***Brucella maris***, et se divisent en *Brucella cetaceae* (isolée chez les dauphins) et *Brucella pinnipediae* (isolée chez des phoques). <sup>(1, 2, 136)</sup> Certaines de ces bactéries pourraient être pathogènes pour l'homme, et seraient à l'origine de rares cas de contamination humaine. <sup>(2, 136, 162)</sup>

Des études génétiques récentes montrent que le genre *Brucella* est monospécifique. Toutes les espèces de *Brucella* seraient, en réalité, des biovars de *Brucella melitensis*.<sup>(1, 3, 132)</sup> Par souci de simplification, les anciennes dénominations sont aujourd'hui encore largement utilisées dans la littérature scientifique, et nous les conserverons donc dans cette thèse.

## IV. BRUCELLOSE : MODES DE CONTAMINATION HUMAINE ET PRÉVENTION DIRECTE

### IV.1) Les différents modes de contamination

La pénétration de la bactérie dans l'organisme humain peut s'effectuer par voie orale, cutanée, conjonctivale ou aérienne. <sup>(2, 3, 23)</sup> *Brucella* peut survivre jusqu'à deux ans dans le milieu extérieur si les conditions lui sont favorables (température basse, absence de lumière), mais seulement quelques heures en l'absence de matrice organique et sous la lumière directe du soleil. <sup>(54, 68)</sup> On distingue deux grands types de contamination : la contamination par contact direct avec un environnement souillé et la contamination par ingestion d'aliments. <sup>(2, 17, 23, 64)</sup>

La **contamination par contact direct** s'effectue de trois façons : 1° par pénétration cutanée de la bactérie (excoriation) ; 2° par la muqueuse digestive (manuportage) ; 3° par voie aéroportée ou parfois conjonctivale (une simple projection de bactéries contenues dans des poussières peut suffire à générer une infection). <sup>(2, 23, 64, 68)</sup>

Suite à un avortement ou à une mise-bas, les produits issus du tractus génital des femelles (eaux fœtales, avorton, placenta, lochies) représentent la matière virulente essentielle, et sont très contaminants, beaucoup plus que l'urine ou les fèces. <sup>(2, 43, 71, 158)</sup> Des animaux peuvent être porteurs asymptomatiques et excréteurs de la bactérie (notamment les chèvres dont le lait peut être riche en brucelles). <sup>(145)</sup>

La **contamination par ingestion d'aliments** est généralement provoquée par la consommation de lait non pasteurisé, de produits qui en sont dérivés ou de viande peu cuite. (1, 2, 23, 64)

En zone d'endémie, la contamination alimentaire est la plus répandue. Dans les pays officiellement indemnes de brucellose, comme la France, c'est la contamination par contact direct qui est la plus fréquente. Celle-ci se produit le plus souvent dans des laboratoires d'analyses, suite à la manipulation de prélèvements issus de personnes contaminées à l'étranger. (23, 44, 64)

Lorsque la transmission est alimentaire ou aérienne, des épidémies locales peuvent survenir, notamment lors des avortements (Allemagne, 1982 : 15 cas humains par aérosols autour d'un même troupeau), dans les abattoirs (USA, 1992 : 30 cas humains par aérosols dans un abattoir industriel de porcs) ou chez les consommateurs (Espagne, 1996 : 81 cas humains suite à la consommation de fromages issus d'un élevage). On retiendra aussi que 65 personnes se sont contaminées lors de la dissection de deux utérus gravides bovins dans un lycée français en 1985 (dont 100 % des élèves de la classe). (2, 158)

La transmission de *Brucella* de la faune sauvage à l'homme se produit mais reste rare. À l'instar de la tularémie, il arrive que des chasseurs se contaminent au contact de carcasses d'animaux tués. (1, 3, 30, 143)

Comme évoqué précédemment, la transmission interhumaine de la bactérie est, selon les études, soit exceptionnelle soit inexistante. (3, 18, 23, 56, 68)

## IV.2) Les professionnels exposés à la contamination directe

### IV.2.a) Le personnel de laboratoire

La brucellose est l'infection bactérienne la plus fréquemment acquise dans les laboratoires ; elle est reconnue comme maladie professionnelle. <sup>(2, 18, 26)</sup>

La France est officiellement indemne de brucellose, mais un patient peut s'infecter en dehors du territoire français, suite à la consommation de lait ou de fromage frais... Une fois le patient de retour, devant des symptômes peu spécifiques, le médecin pourra demander l'analyse d'un prélèvement biologique, sans trop savoir à quoi s'attendre. En l'absence de précautions particulières, la manipulation de tels prélèvements est à risque. En effet, les cultures brucelliennes forment très facilement des aérosols. <sup>(64)</sup> Le simple fait d'ouvrir une boîte peut créer un appel d'air contaminant. <sup>(2)</sup>

Devant une suspicion de brucellose, le médecin doit donc prévenir le laboratoire d'analyses. Encore faut-il, lors du diagnostic, penser à la brucellose, ce qui n'est pas forcément évident dans un pays où cette maladie protéiforme est désormais très rare. Si une telle suspicion est posée, l'analyse du prélèvement s'effectue, conformément à la loi, dans un laboratoire hautement sécurisé, afin de limiter le risque de contamination du personnel. <sup>(11, 12)</sup> Ce sont généralement des souches « non encore identifiées » qui sont à l'origine des contaminations en laboratoire. <sup>(2)</sup>

Bien que 95 départements de France métropolitaine soient *officiellement* indemnes de brucellose bovine, ovine et caprine, de rares animaux (principalement sauvages) peuvent être porteurs de la bactérie. <sup>(40, 73, 114, 146)</sup> L'analyse d'un prélèvement d'origine animale peut donc également être à l'origine d'une contamination en laboratoire.

#### **IV.2.b) Les agriculteurs, les bergers, les bouchers et les vétérinaires**

La brucellose se manifeste souvent par des avortements chez les animaux. « Chargés » d'un grand nombre de brucelles, ces produits d'avortement sont très contaminants pour l'homme, et tout particulièrement pour les professionnels s'occupant de la mise-bas. Les litières et les sécrétions génitales peuvent aussi être riches en *Brucella*.<sup>(23, 43, 64)</sup> Un simple contact avec un animal infecté, de la laine de mouton ou du fumier peut être contaminant.<sup>(2, 23)</sup>

La brucellose est donc une maladie touchant plus fréquemment les professionnels directement en contact avec les animaux, comme les agriculteurs, les bergers ou les vétérinaires. Les équarisseurs et les employés d'abattoirs peuvent, quant à eux, se contaminer en manipulant des carcasses infectées.<sup>(2, 23)</sup>

Les vaccins anti-brucelliques actuellement disponibles sont exclusivement destinés à l'usage vétérinaire, et ont un pouvoir pathogène résiduel. Lors d'une administration à l'animal, le manipulateur peut se contaminer en s'inoculant accidentellement la souche vaccinale.<sup>(2)</sup> De nos jours, la vaccination anti-brucellique se pratique très peu en France, mais de 1975 à 1984, elle était obligatoire chez les bovins, et ce mode de contamination était donc plus fréquent. L'Office International des Épizooties (OIE) rapporte qu'aux États-Unis, le nombre d'inoculations humaines par inadvertance est d'environ 8 pour 11 000 injections de RB51 sur bovins. La prise d'un traitement antibiotique prophylactique suite à un accident de manipulation est recommandée (cf. V.9). La probabilité de survenue d'effets secondaires chez l'humain dépend de la souche vaccinale utilisée (cf. XI.1.b).<sup>(26, 132)</sup>

### **IV.3) Contamination alimentaire**

La contamination par la consommation de viande peu cuite (en particulier d'abats), d'eau ou de légumes souillés par du fumier est possible mais marginale.

La principale source de contamination alimentaire est le lait cru. <sup>(1, 2, 23, 64, 68)</sup>

#### **IV.3.a) Le lait cru et ses produits dérivés**

20 à 60 % des vaches séropositives, sans symptôme de brucellose, éliminent la bactérie dans leur lait (parfois de façon intermittente). Après un avortement brucellique, ce taux s'élève à plus de 70 %. <sup>(44)</sup>

Chez les ruminants domestiques, la quantité de brucelles éliminées dans le lait d'une femelle contaminée est irrégulière. Certaines femelles séropositives excrètent  $10^6$  bactéries par millilitre de lait ; d'autres en excrètent « moins que le seuil de détection ». Le niveau d'excrétion semble plus faible chez les bovins que chez les petits ruminants (ovins et caprins). <sup>(44)</sup>

Les bovins sont généralement contaminés par *Brucella abortus*, souche modérément pathogène pour l'homme, alors que les petits ruminants sont plus souvent infectés par *Brucella melitensis*, souche fortement pathogène pour l'humain. Pour cette raison, la consommation « accidentelle » de lait bovin contaminé peut être considérée comme moins dangereuse que l'ingestion de lait contaminé provenant d'ovins ou de caprins. <sup>(44)</sup> Toutefois, cette considération doit être relativisée étant donné que *Brucella melitensis* est parfois retrouvée dans du lait de vache (par exemple, dans le massif du Bargy). <sup>(42, 44, 114)</sup>

L'excrétion de brucelles dans le lait s'accompagne fréquemment (mais pas systématiquement) de la présence d'anticorps dans le lait. La recherche de ces anticorps est très pratiquée chez les bovins, beaucoup moins chez les petits

ruminants. La probabilité qu'une infection brucellique soit détectée est donc plus grande chez les bovins laitiers que chez les petits ruminants.<sup>(44)</sup> Pour mieux appréhender le risque de contamination humaine, il est important de noter que les éventuelles brucelles sécrétées dans le lait d'un animal sont souvent diluées, car mélangées aux laits des autres animaux.

Dans le massif du Bargy, *Brucella melitensis* a été retrouvée dans du lait de vache en 2012.<sup>(114)</sup> En 2016, de nombreux troupeaux bovins de Haute-Savoie sont encore « entourés » de bouquetins porteurs de cette brucelle, ce qui suscite l'inquiétude de la filière laitière.<sup>(42, 43)</sup> Le lait du Bargy est essentiellement destiné à fabriquer une spécialité fromagère locale : le **Reblochon**.<sup>(99)</sup> Des incertitudes existent quant à la possibilité d'une contamination humaine par ce produit au lait cru. C'est pourquoi l'ANSES a été saisie afin de se prononcer sur l'impact de la maturation des fromages sur la survie de *Brucella*. Il en ressort qu'au-delà de 60 jours d'affinage, la probabilité de survie de la bactérie dans un fromage paraît extrêmement faible.<sup>(44)</sup> Le cahier des charges du Reblochon, Appellation d'Origine Protégée (AOP), impose un minimum de seulement 15 jours d'affinage, ce qui, au vu des études disponibles, ne garantit pas l'inactivation des brucelles.<sup>(99)</sup> Toutefois, une rétrospective des *Bulletins épidémiologiques hebdomadaires* indique qu'aucun fromage affiné n'est cité comme source probable de cas de brucellose humaine en France sur la période 1985 – 2012.<sup>(44)</sup> En pratique, le lait cru et les fromages frais semblent donc être les seuls produits laitiers contaminants.<sup>(44)</sup> La disparition de la bactérie dans le beurre, le yaourt ou les fromages affinés est liée en partie à l'acidification du produit au cours de sa transformation ou de sa maturation.<sup>(2)</sup>

### IV.3.b) La pasteurisation

S'appliquant au lait ou à d'autres liquides, la pasteurisation détruit, de façon certaine, un grand nombre de micro-organismes pathogènes dont *Brucella*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella* et *Staphylococcus*. De plus, la pasteurisation retarde la croissance des micro-organismes, et augmente la durée de conservation des produits. <sup>(28, 65, 92)</sup>

L'efficacité de la pasteurisation sur la destruction de *Brucella* a été mise en évidence en 1921. Cette découverte a permis de réduire le risque de transmission de la maladie à l'homme par des moyens techniques relativement simples à mettre en œuvre. Dans les régions fortement touchées par la brucellose animale (Afrique, Moyen-Orient...), la pasteurisation du lait a un très fort impact sur l'épidémiologie humaine. <sup>(5, 25, 65)</sup>

La pasteurisation consiste à chauffer un produit au-dessus d'une certaine température durant un certain temps. Les techniques de pasteurisation ont progressivement évolué vers une baisse de la durée de chauffe et une élévation de la température. On parle de pasteurisation basse pour 30 minutes de chauffe à 63 °C, de pasteurisation haute pour quelques secondes à 90 °C, de pasteurisation ultra haute (UHT) pour quelques fractions de secondes à plus de 100 °C, et de stérilisation lorsque la température atteint 140 °C. <sup>(28, 65)</sup> La stérilisation détruit tous les micro-organismes, y compris les virus, ce qui n'est pas le cas de la pasteurisation. <sup>(65)</sup>

Dans du lait, *Brucella abortus* ne résiste pas plus de 15 secondes à une température de 71 °C (contre 24 heures à 30 °C et 18 mois à 0 °C). <sup>(2)</sup> Cependant, sans doute pour des raisons organoleptiques, la pasteurisation est contraire au cahier des charges du Reblochon. <sup>(99)</sup>

## V. LA BRUCELLOSE HUMAINE : « MALADIE AUX CENT VISAGES »

### V.1) Pouvoir pathogène humain des différentes espèces de *Brucella*

Le pouvoir pathogène des brucelles, c'est-à-dire leur capacité à induire des symptômes, dépend de l'espèce bactérienne en cause et de son biovar.

Les *Brucella* **fortement pathogènes** pour l'homme sont :

- *B. melitensis* (souche en cause dans le massif du Bargy),
- les biovars 1, 3 et 5 de *Brucella suis* (absents en France).

Les brucelles **modérément pathogènes** sont :

- *Brucella abortus* (détectée en France en 2012),
- *Brucella suis* biovar 4 (présente essentiellement en Russie).

Les brucelles **faiblement pathogènes** pour l'homme sont :

- *Brucella canis*,
- *Brucella suis* biovar 2.

La séroprévalence de *B. suis* biovar 2 chez les sangliers serait de l'ordre de 40 % en France ; cette souche menace les élevages porcins, mais n'induirait des symptômes chez l'humain que dans de rares cas, essentiellement chez des patients immunodéprimés. <sup>(1, 2, 3, 38, 40, 71, 96)</sup>

*B. ovis* n'est pas pathogène pour l'homme. Quant aux espèces bactériennes retrouvées chez les mammifères marins, elles sont encore mal connues, mais certaines semblent très pathogènes. <sup>(1, 3, 136)</sup>

En France, les espèces de *Brucella* les plus préoccupantes pour la santé humaine sont donc *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* et, dans une moindre mesure, *Brucella suis* biovar 2.

## **V.2) *Brucella*, agent biologique pathogène du groupe 3**

L'arrêté du 18 juillet 1994 fixe la liste des agents biologiques pathogènes, et les classe, par ordre croissant de virulence, en 4 groupes. Ce classement des agents biologiques pathogènes s'accompagne d'une réglementation rigoureuse ; notamment en laboratoire où les agents biologiques des groupes 2, 3 et 4 doivent se manipuler en respectant des mesures de confinement.<sup>(14)</sup>

*Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis* et *Brucella canis* appartiennent au groupe 3 qui « comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs, [dont la] propagation dans la collectivité est possible, [et contre lesquels] il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace ». <sup>(11, 12)</sup>

Les agents pathogènes du groupe 3 doivent être manipulés dans des laboratoires de confinement L3. Ces laboratoires doivent être maintenus en dépression par rapport aux zones voisines, et équipés d'une alarme signalant tout changement de pression. Leur accès doit s'effectuer par un sas et être réglementé. L'air doit y être filtré.<sup>(15)</sup>

Comme pour *Mycobacterium bovis* (autre agent pathogène du groupe 3), mener une étude vaccinale sur une souche de *Brucella* demande donc la mise en œuvre d'une logistique particulièrement lourde.<sup>(11, 12, 95)</sup> Ce point sera de nouveau

évoqué lorsque nous nous intéresserons aux éventuels essais vaccinaux portant sur les bouquetins du massif du Bargy ou sur les blaireaux du Royaume-Uni (cf. X.2).

### V.3) *Brucella*, arme biologique potentielle

L'inhalation par voie aérienne de dix à cent bactéries brucelliennes peut suffire à déclencher une infection chez un être humain. <sup>(1, 2, 68)</sup> Ce qui explique en grande partie que les États-Unis assimilent cette bactérie à « un pathogène potentiellement utilisable à des fins de bioterrorisme ». <sup>(1, 61)</sup> *Brucella* pourrait, de surcroît, être utilisée comme arme dans le cadre d'une guerre bactériologique. Des bombes contenant *B. suis* ont d'ailleurs été produites par l'US Air Force en 1955. <sup>(1, 3)</sup> L'utilisation de souches résistantes aux antibiotiques pourrait augmenter la dangerosité de telles armes.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'une dissémination par avion de 50 kg de *Brucella* au-dessus d'une ville de 500 000 habitants pourrait contaminer 100 000 personnes et en tuer 500. Le pouvoir infectieux de *Brucella* est l'un des plus élevés « du monde bactérien ». Cependant, « le pouvoir létal » de cette bactérie est beaucoup moins grand que celui de *Bacillus anthracis* ou que celui de *Francisella tularensis* (agents pathogènes respectivement à l'origine de la maladie du charbon et de la tularémie). <sup>(1, 58, 62)</sup>

En France, tous les cas de brucellose déclarés font l'objet d'une investigation destinée à éliminer l'hypothèse d'une utilisation malveillante. <sup>(2)</sup>

#### V.4) Suivi d'une maladie à déclaration obligatoire

Compte tenu de ce fort pouvoir pathogène, la brucellose est, en France, l'une des 31 maladies à déclaration obligatoire (aux côtés de la rage, de la tuberculose ou encore de la tularémie).<sup>(9)</sup> La liste de ces maladies est fixée par l'arrêté du 22 août 2011.<sup>(60)</sup>

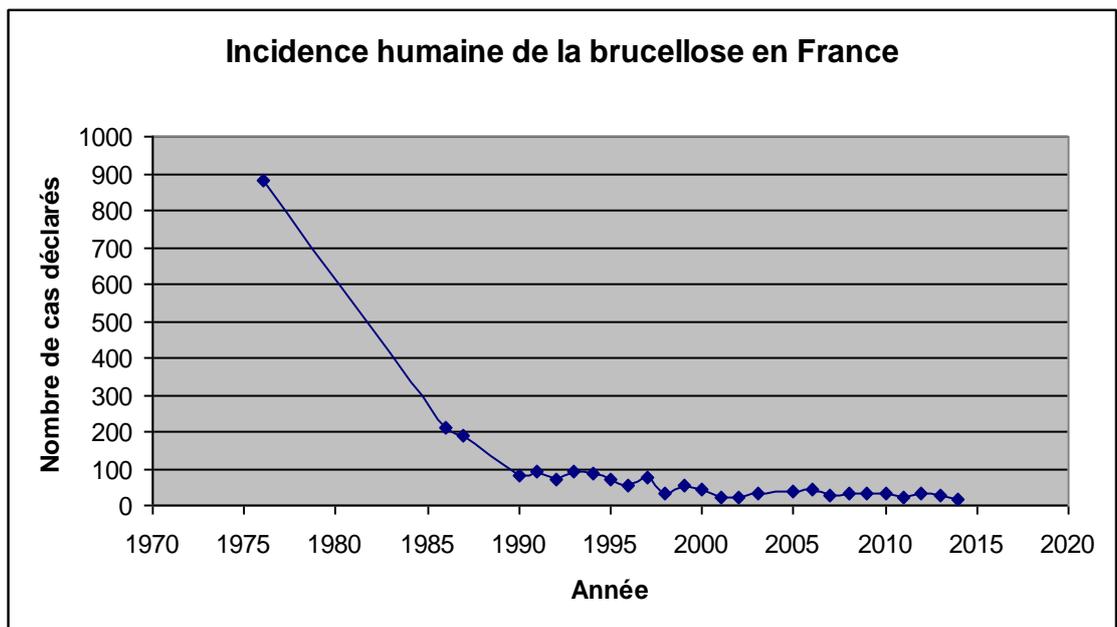
Un médecin suspectant un cas de brucellose doit le signaler sans délai à l'Agence Régionale de Santé (ARS). L'ARS met alors en place des mesures de prévention, et déclenche des investigations pour identifier l'origine de la contamination. Après le signalement, une fiche spécifique est remplie par le médecin. Notamment utilisée pour suivre l'épidémiologie de la maladie, cette fiche est un document officiel figurant en annexe de l'arrêté du 22 août 2011.<sup>(5, 60)</sup>

En France, depuis octobre 2002, la surveillance de la brucellose est organisée, sous la tutelle du Ministère de la Santé, par l'action conjointe de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), du Centre National de Référence des *Brucella* (CNR) et du Laboratoire Associé au CNR (situé à Grenoble).<sup>(1, 3)</sup> Grâce aux moyens mis en œuvre pour réaliser ce suivi, nous disposons, en France, de données épidémiologiques exhaustives.

Nonobstant la rigueur d'un tel suivi, l'ampleur de la brucellose est vraisemblablement sous-estimée par les chiffres officiels, et ce quel que soit le pays. En effet, le nombre de cas déclarés ne peut être qu'inférieur au nombre de cas réels puisque certains porteurs de la bactérie développent peu de symptômes ou parce que des formes fébriles sont arrêtées par des antibiotiques avant qu'un diagnostic bactériologique soit posé. Certaines études concluent qu'il faut multiplier par 5 (voire par 25, selon les pays) le nombre de cas déclarés pour obtenir une meilleure estimation du nombre de cas réels de brucellose.<sup>(7, 23, 108)</sup>

## V.5) Épidémiologie de la brucellose humaine en France

Grâce à la pasteurisation et au dépistage des ruminants, l'incidence française de la brucellose humaine est en diminution depuis les années 1930. <sup>(5, 28)</sup> Cette lutte connaît un pic d'efficacité lorsque la vaccination des bovins est rendue obligatoire à la fin des années 1970. <sup>(26)</sup>



**Figure 3 :** Incidence humaine de la brucellose en France, 1976-2014. <sup>(5, 7, 147)</sup>

En 1976, 883 cas de brucellose humaine sont déclarés en France. <sup>(7)</sup> En 1986, cette incidence annuelle passe à 210 ; puis à 82 en 1990. <sup>(5, 147)</sup> De 1991 à 2000, 67 cas de brucellose sont, en moyenne, déclarés chaque année. De 2001 à 2010, ce chiffre avoisine les 30, soit deux fois moins que sur la décennie précédente. De 2011 à 2014, il n'est plus que de 24. <sup>(5)</sup> En somme, la brucellose humaine est en très forte régression sur le territoire français depuis le début des années 1980. En 2014, 16 cas sont enregistrés par l'InVS pour environ 66 millions d'habitants, soit une incidence de l'ordre de 0,025 cas pour 100 000 personnes.

Comparée à la tuberculose qui touche, chaque année, environ 4700 nouvelles personnes dans « l'hexagone » (incidence  $\approx 7,5/100\ 000$ ), l'incidence de la brucellose reste donc très faible.<sup>(5, 24)</sup> Cette incidence brucellique est d'ailleurs l'une des plus faibles au monde.<sup>(2, 23)</sup>

Une étude de l'InVS menée entre 2002 et 2004, portant sur 47 personnes, indique que l'espèce brucellienne la plus fréquemment isolée chez l'être humain en France est *Brucella melitensis* (86 % des cas déclarés) devant *Brucella abortus* (8 %) et *Brucella suis* biovar 2 (2 %).<sup>(2)</sup> Mais ne perdons pas de vue qu'une contamination par *Brucella suis* biovar 2, espèce bactérienne qui circule fortement chez les sangliers, reste souvent asymptomatique (ou pauci-symptomatique) chez l'homme.<sup>(1, 40)</sup> Il est donc difficile d'évaluer le nombre d'humains contaminés par *Brucella suis* biovar 2.

S'appuyant en particulier sur les fiches de déclaration obligatoire, l'InVS étudie l'origine des contaminations brucelliques humaines. Alors que par le passé, les cas autochtones étaient les plus fréquents, la tendance s'est inversée. Ainsi, depuis plusieurs années, les brucelloses déclarées sont très majoritairement contractées en dehors du territoire français, notamment au Portugal et au Maghreb.<sup>(2, 5, 55)</sup> Sur la période 2003-2012, quelques contaminations humaines sont survenues sur le sol français, mais quasi exclusivement dans un contexte professionnel en lien direct avec un cas importé (manipulation de prélèvements biologiques en laboratoire d'analyses).<sup>(26)</sup>

En 2012 et 2013, deux cas humains de brucellose sont détectés en Haute-Savoie (dans une même famille). Ce sont les premiers cas autochtones liés à la consommation d'aliments (produits sur le territoire français) depuis environ dix ans. Ces deux cas sont reliés à une infection bovine, elle-même révélatrice d'une

vaste épizootie de brucellose affectant les bouquetins du massif du Bargy (cf. VIII).<sup>(5, 42, 43, 114, 146)</sup> Les choix relatifs à la gestion de ce réservoir sauvage de *Brucella melitensis* pourraient avoir un impact significatif sur l'épidémiologie de la brucellose humaine en France.

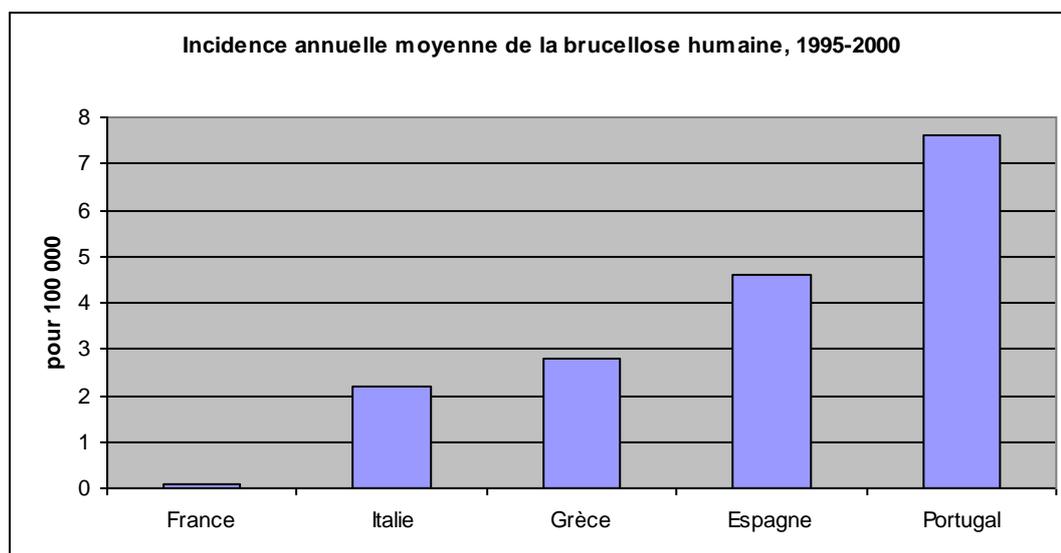
## V.6) Épidémiologie de la brucellose dans le monde

Selon l'OMS, la brucellose est une maladie de répartition mondiale qui infecterait, chaque année, 500 000 nouvelles personnes.<sup>(23, 69)</sup> Son incidence varie fortement d'un pays à l'autre.<sup>(2)</sup> Ainsi, selon les régions du monde, elle toucherait, chaque année, entre 0,025 et 200 personnes sur 100 000.<sup>(2, 5, 23, 24, 108)</sup> À l'instar de la France, de nombreux pays « économiquement développés » ont réussi à combattre efficacement la brucellose grâce à des mesures de gestion drastiques. Aux États-Unis par exemple, l'incidence de la brucellose humaine n'est plus que de 0,036 cas pour 100 000 habitants.<sup>(23)</sup>

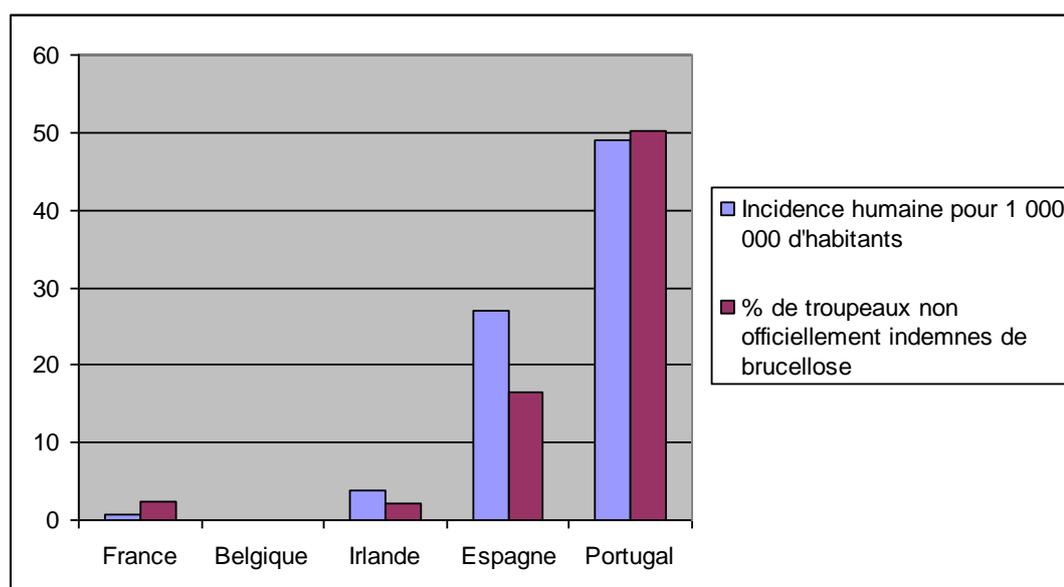
Les pays ayant moins de ressources financières n'ont généralement pas les moyens de mettre en place de larges programmes de lutte contre la « fièvre de Malte » ; si bien qu'à l'échelle mondiale, la brucellose demeure endémique dans les Balkans, au Moyen-Orient, en Asie de l'Ouest, dans des régions d'Afrique ou encore en Amérique latine...<sup>(1, 23)</sup> Dans certains pays enzootiques, l'incidence rapportée demeure faible en raison de l'insuffisance des systèmes de surveillance.<sup>(2, 3)</sup>

En Europe, le contraste épidémiologique est très marqué d'un territoire à l'autre. Les incidences observées semblent dépendre des politiques sanitaires menées par les différents pays. Entre 1995 et 2000, la France dénombre 330 cas de

brucellose humaine contre 7584 pour l'Italie, 1799 pour le Grèce, 11102 pour l'Espagne, 4589 pour le Portugal, et zéro pour le Danemark. <sup>(107)</sup> Soit, pour 100 000 habitants, une incidence annuelle moyenne de : 0,1 cas en France, 2,2 cas en Italie, 2,8 cas en Grèce, 4,6 cas en Espagne et 7,6 cas au Portugal. <sup>(24)</sup>



**Figure 4 :** Incidence annuelle moyenne de la brucellose humaine dans 5 pays de l'UE sur la période 1995-2000. <sup>(24, 107)</sup>



**Figure 5 :** Incidence de la brucellose humaine et proportion de troupeaux non officiellement indemnes de brucellose dans 5 pays de l'UE en 2000. <sup>(24, 107)</sup>

En 2000, la proportion de troupeaux officiellement indemnes de brucellose (cf. VII.2) était très variable selon les pays de l'UE, allant de 99,95 % en Belgique à 49,9 % au Portugal. <sup>(70, 107)</sup> Globalement, et malgré d'éventuels biais liés aux méthodes de mesures, l'incidence humaine semble corrélée à la proportion de troupeaux officiellement indemnes de brucellose. Autrement dit : moins la maladie est présente dans les élevages, moins elle est présente dans les populations humaines.

Au Moyen-Orient, l'incidence humaine observée semble supérieure aux valeurs maximales rencontrées en Europe. En Arabie Saoudite, en Iran, en Turquie et en Irak, elle est d'environ 25 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants ; et s'élèverait à 160/100 000 en Syrie. L'OMS estime qu'au Moyen-Orient, l'incidence réelle est 10 à 25 fois supérieure à l'incidence observée. <sup>(107, 108)</sup>

En Afrique, la prévalence de la brucellose bovine dépasserait les 12,5 % au Burkina Faso, au Sénégal, au Soudan et au Tchad, et serait même comprise entre 18 et 25 % en Côte d'Ivoire, au Mali, au Niger, au Rwanda, au Togo et en Zambie. <sup>(8)</sup> Au Mali, 53 % des cheptels bovins seraient infectés ; et ce chiffre s'élèverait à 96 % en périphérie de Dakar au Sénégal. <sup>(69)</sup> La zoonose affecte de nombreuses autres espèces : 15 à 20 % des camélidés (chameaux et dromadaires) du continent sont contaminés par *Brucella*. <sup>(23)</sup> Cette forte prévalence africaine de la brucellose animale est à l'origine d'une importante contamination de l'homme ; chez qui, la séroprévalence est estimée à 13,1 % en Ouganda, 6,2 % en Tanzanie, 3 % en Égypte et 2,6 % en Éthiopie. <sup>(69, 137)</sup> Une étude menée sur 150 patients dans un centre de santé de la ville de Mopti au Mali révèle que 58 % des patients présentant de la fièvre sont séropositifs à *B. melitensis* et 49 % à *B. abortus*. <sup>(137)</sup>

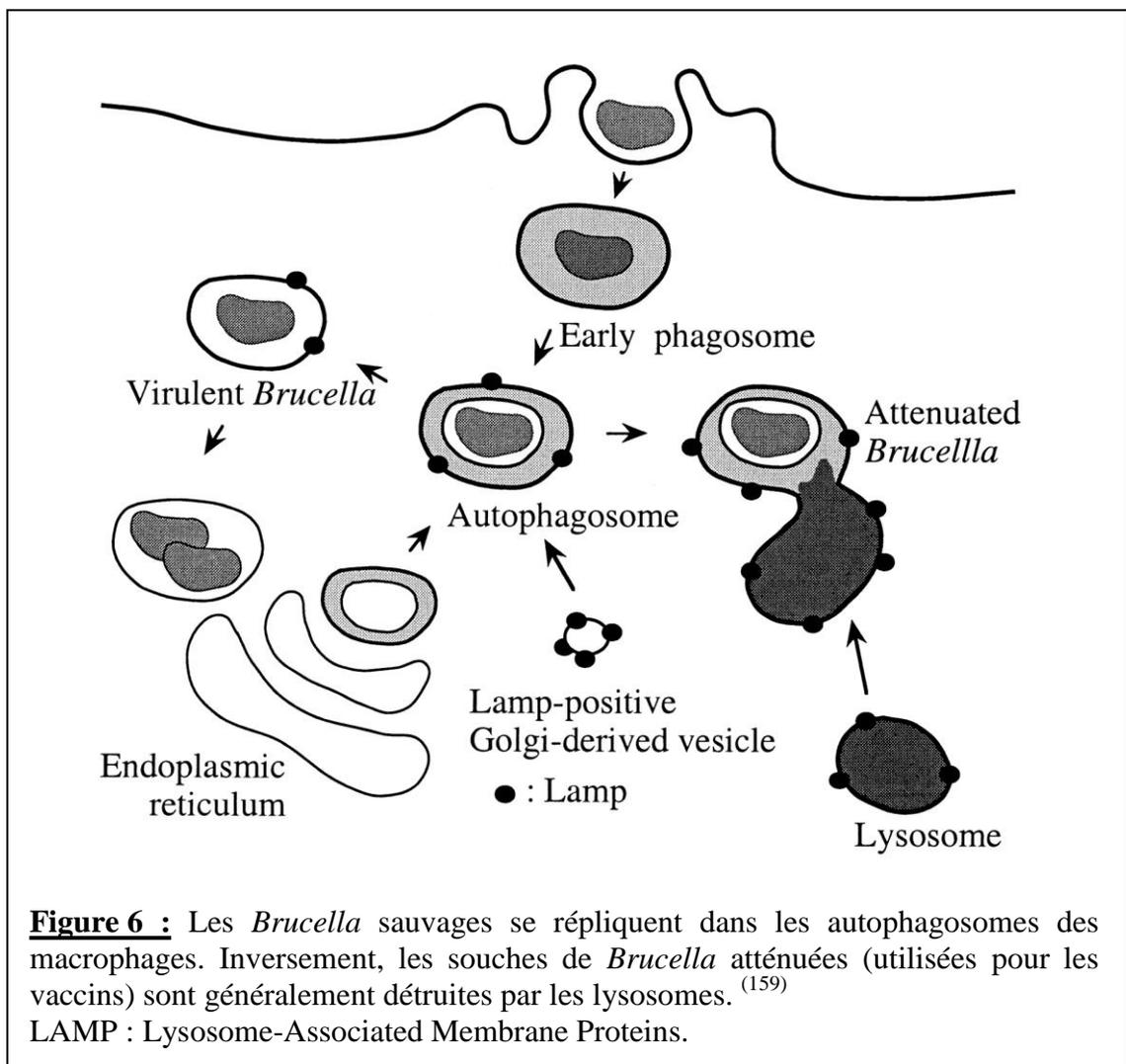
Localement, l'incidence humaine n'est pas toujours directement dépendante de l'incidence animale. En effet, dans certaines régions, la prévalence humaine est faible alors que la prévalence animale est forte ; d'autres territoires connaissent une situation inverse. Des facteurs culturels impactent la contamination humaine. Ainsi, la transmission de *Brucella* de l'animal à l'homme est favorisée par certaines habitudes alimentaires ou par un mode de vie étroitement lié aux animaux. On trouve parfois des différences importantes selon les populations considérées, en relation avec les coutumes de chacune d'entre elles. <sup>(2, 7, 8, 69)</sup> En Californie, sur la période 1973-2001, la brucellose atteint très majoritairement la population d'origine hispanique, qui est particulièrement consommatrice de produits au lait cru provenant du Mexique. <sup>(2)</sup> La consommation de foie cru en Érythrée, de fœtus de mouton en Équateur ou de moelle osseuse de caribou dans les régions arctiques sont des pratiques alimentaires à haut risque de contamination. <sup>(2, 145)</sup> Outre les habitudes alimentaires, de nombreux autres facteurs culturels ont une influence sur l'incidence de la maladie, notamment le fait d'habiter dans la même cour que des moutons ou des vaches. <sup>(137)</sup> La rareté de l'eau (qui implique souvent une limitation du lavage des mains) facilite la contamination des agriculteurs... Le système d'élevage, le degré de promiscuité des animaux, les méthodes d'agnelage ont également un impact sur la transmission de la maladie. <sup>(2)</sup>

### **V.7) Physiopathologie de la brucellose humaine**

Au cours de la période d'incubation, les bactéries migrent par voie lymphatique jusqu'au premier relais ganglionnaire où elles se multiplient. Ensuite, ces brucelles se disséminent (par voie lymphatique et par voie sanguine) jusqu'aux organes riches en cellules réticulo-histiocytaires : autres ganglions, foie, rate,

moelle osseuse, organes génitaux. Puis, rapidement, le système immunitaire s'active, exerce sa réponse *innée* : les macrophages reconnaissent les *Brucella* et les internalisent. (23, 64)

Mais contrairement à la plupart des agents pathogènes, les *Brucella* ne sont pas détruites par les macrophages : elles peuvent y survivre durablement et s'y multiplier. Pour cela, elles sécrètent un facteur empêchant l'apoptose des macrophages infectés. Les brucelles sont donc des bactéries intracellulaires facultatives. (1, 3, 23, 56, 64)



Il y a alors constitution de foyers bactériens intracellulaires entourés d'une réaction inflammatoire. Au cours de cette phase, des symptômes cliniques aigus

peuvent se manifester, notamment une hyperthermie et des sueurs caractérisant la typique fièvre ondulante sudoro-algique.<sup>(23, 64)</sup>

Après 10 à 15 jours d'évolution, le système immunitaire lance son second assaut : c'est la réponse immunitaire *adaptative* (cf. IX.3 et IX.4). Les lymphocytes B produisent des anticorps (d'abord des IgM), puis se transforment en plasmocytes sécrétant IgG et IgA. Les lymphocytes T CD4+ sont activés, et les lymphocytes CD8+ détruisent les cellules infectées.<sup>(28, 64, 160)</sup> Dès lors, cette réponse immunitaire s'oppose au développement de l'infection qui, même en l'absence de traitement, va cliniquement s'apaiser.<sup>(23)</sup>

Après cette phase, des foyers bactériens peuvent se développer au niveau ostéo-articulaire, testiculaire, neurologique ou hépatique...<sup>(1, 2, 23, 64)</sup>

## **V.8) Aspects cliniques et biologiques de la brucellose humaine**

Généralement comprise entre deux semaines et trois mois (voire plus), la durée d'incubation de la brucellose est variable.<sup>(2)</sup>

Une contamination par *Brucella* peut rester asymptomatique ou paucisymptomatique chez l'humain. Dans de tels cas, le diagnostic ne peut être établi que de façon fortuite : par exemple, au cours d'une enquête sérologique menée après une exposition avérée.<sup>(1, 64)</sup> L'incidence de la « brucellose asymptomatique » est difficile à estimer ; elle varie selon les souches en cause, et semble relativement importante. Quoi qu'il en soit, l'infection par *Brucella* se manifeste fréquemment par des signes cliniques plus ou moins marqués.

La brucellose aiguë se traduit souvent par une fièvre ondulante, parfois accompagnée de sueurs nocturnes abondantes ayant une « odeur d'étable ».<sup>(2, 22, 25,</sup>

<sup>64)</sup> Selon une étude portant sur 633 patients atteints de brucellose aiguë, 76 % de ces

personnes présentait de la fièvre, 74 % une arthralgie, 72 % un état de fatigue, 67 % des sueurs, 52 % un manque d'appétit, 46 % des frissons, 42 % une perte de poids, 37 % des myalgies, 26 % des nausées et des vomissements, 23 % des douleurs en bas du dos. <sup>(109)</sup> Une autre étude menée en France par l'InVS (entre 2002 et 2004, sur 55 patients) met en avant les mêmes symptômes. <sup>(2)</sup> Fièvre, arthralgie, asthénie, sueurs, perte de poids et myalgies sont donc les symptômes les plus souvent observés durant une brucellose aiguë. <sup>(1, 2, 3, 18, 21, 22, 25, 64, 109)</sup> Ces symptômes sont majoritairement peu spécifiques, ce qui complique le diagnostic clinique de la brucellose. <sup>(3)</sup> Cette phase aiguë peut durer quelques jours ou se prolonger plusieurs semaines. <sup>(2)</sup>

Chez 10 à 40 % des patients, la brucellose aiguë, infection systémique, évolue vers une brucellose subaiguë, qui se manifeste par une persistance de symptômes cliniques atténués. Cette phase est surtout caractérisée par la possible survenue d'une (ou de plusieurs) complication(s) infectieuse(s) focalisée(s) associée(s) à des douleurs, un enraidissement, et éventuellement à une altération de l'état général. <sup>(2, 3, 19, 64, 109)</sup> Le délai entre la phase aiguë et la survenue d'une complication est très variable ; il peut être de plusieurs années. En l'absence de phase aiguë, une focalisation est parfois révélatrice de l'infection. <sup>(64)</sup>

La focalisation articulaire est l'une des plus fréquentes, et concernerait 25 % des brucelloses symptomatiques. <sup>(109)</sup> Ce sont les articulations périphériques et sacro-iliaques qui sont le plus souvent touchées. Leur atteinte peut être à l'origine de séquelles handicapantes. La spondylite brucellienne (inflammation des vertèbres) est caractéristique. <sup>(1, 2, 3, 138)</sup> Les arthrites peuvent aussi se manifester sur des prothèses. <sup>(2)</sup> Des focalisations urogénitales, hépatiques ou nerveuses sont observées chez 1 à 6 % des patients. <sup>(1, 2, 21, 109)</sup> Sont plus rarement rencontrées des

formes focalisées d'infection des valvules aortiques, des poumons, des reins, de la vésicule biliaire et des glandes mammaires. <sup>(2, 22)</sup>

Lorsque la maladie devient chronique (symptômes qui persistent plus de 6 à 12 mois), une « patraquerie brucellienne » peut être observée : le patient se sent physiquement et intellectuellement fatigué, ce qui peut le rendre dépressif. <sup>(2, 3, 64)</sup> Cette « patraquerie » postbrucellose peut survenir en l'absence de signes cliniques objectifs, sans que le germe soit mis en évidence. <sup>(163)</sup>

Une réactivation infectieuse se produit quelquefois. Celle-ci se manifeste par les symptômes d'une brucellose aiguë ou par une focalisation. <sup>(2)</sup> La phase de réactivation est parfois révélatrice d'une contamination qui avait jusque-là passé inaperçue, et peut survenir après un « mutisme » de plusieurs décennies. <sup>(64, 163)</sup>

Selon une étude menée sur 92 femmes enceintes atteintes de brucellose aiguë, l'infection semble augmenter le risque d'avortement, particulièrement lors des deux premiers trimestres de grossesse. <sup>(1, 2, 20, 112)</sup> L'effet abortif de *Brucella* serait donc commun aux humains et aux animaux. L'instauration d'une antibiothérapie diminuerait significativement le risque d'avortement : 90 % des patientes traitées accoucheraient à terme, sans complication. <sup>(2, 20, 112)</sup>

Le taux de létalité de la brucellose semble inférieur à 5 % en l'absence de traitement. <sup>(22, 68)</sup> Une étude menée en Turquie sur 480 patients situe ce taux aux alentours de 0,6 % avec traitement. <sup>(2, 21)</sup> L'OMS semble se baser sur 0,5 %. <sup>(58, 62)</sup> Les endocardites brucelliques sont à l'origine de la plupart des décès. <sup>(2)</sup>

En somme, les symptômes de la brucellose sont très variables d'un individu à l'autre. Cette « maladie aux cent visages » peut passer inaperçue chez certains, devenir chronique et invalidante chez d'autres. Ce caractère *protéiforme* rend le diagnostic de la brucellose difficile, en particulier dans les pays où cette infection est rarement rencontrée. <sup>(138)</sup>

Sur le plan biologique, l'examen de la Numération de la Formule Sanguine (NFS) révèle souvent une absence d'hyperleucocytose, parfois une neutropénie. Traduisant un syndrome inflammatoire, une augmentation de la protéine C réactive (CRP) est généralement observée, et peut s'accompagner d'une élévation modérée des transaminases hépatiques. Ces éléments sont globalement peu spécifiques et insuffisants pour poser un diagnostic de brucellose. <sup>(1, 3)</sup>

## V.9) Traitement

### V.9.a) Sensibilité de *Brucella* aux antibiotiques

*In vitro*, les *Brucella* sont sensibles à plusieurs bêta-lactamines : les pénicillines A, les céphalosporines de troisième génération (notamment la ceftriaxone) et l'imipénème. Les macrolides sont modérément actifs (l'azithromycine est le plus actif d'entre eux). L'activité du **cotrimoxazole** (= triméthoprim + sulfaméthoxazole) est variable d'une espèce bactérienne à l'autre. <sup>(1, 3, 110)</sup>

Les antibiotiques les plus actifs sont les **aminosides** (streptomycine et gentamicine), les **tétracyclines** (doxycycline) et la **rifampicine**. <sup>(1, 3, 23, 64, 110)</sup> La résistance à l'un de ces trois antibiotiques est rarement observée en clinique. Toutefois, des mutants résistants à la rifampicine sont aisément sélectionnables *in vitro*. <sup>(1, 3)</sup> Les cyclines et la rifampicine sont généralement efficaces contre les *Brucella* intracellulaires. <sup>(1, 23, 64)</sup>

Les aminosides ont globalement une faible activité sur les *Brucella* intracellulaires situées dans les macrophages. <sup>(1, 64)</sup> Bien qu'inefficaces contre la brucellose humaine en monothérapie, les aminosides sont souvent prescrits, du fait de leur grande activité sur les bactéries extracellulaires. <sup>(23, 64, 110)</sup>

### V.9.b) Modes d'action des différents antibiotiques

Les **aminosides** pénètrent la membrane externe des *Brucella* par des pores, puis se fixent à la membrane cytoplasmique de la bactérie, et sont transportés par mécanisme actif jusqu'aux ribosomes. Ils se fixent ensuite sur la sous-unité 30S du ribosome, et provoquent une transcription incorrecte de l'information des codons de l'ARN messager. Il en résulte la formation de protéines anormales, provoquant la mort de la bactérie. Les aminosides ont donc une action bactéricide.<sup>(28, 139)</sup>

Les **tétracyclines** inhibent la croissance des bactéries, et ont donc une action bactériostatique. Elles pénètrent la bactérie par un mécanisme semblable à celui des aminosides, et se fixent également sur la sous-unité 30S du ribosome. Une fois fixées, elles empêchent la liaison de l'ARN de transfert à l'ARN messager, et perturbent donc la synthèse protéique, nécessaire à la croissance de la bactérie.<sup>(28, 140)</sup>

La **rifampicine** a un caractère lipophile, traverse facilement les membranes cellulaires, et peut diffuser dans la quasi-totalité des tissus du corps humain. Elle se fixe sur l'ARN polymérase, et bloque la transcription de l'ADN en ARN. En l'absence d'ARN, la bactérie ne peut plus synthétiser de protéines et meurt (action bactéricide). Il suffit d'une seule mutation d'acide aminé de l'ARN polymérase pour que la rifampicine perde son activité antibiotique ; ce qui explique que des phénomènes de résistance soient parfois observés.<sup>(141, 156)</sup>

Les **sulfamides antibactériens** (sulfaméthoxazole) ont une action bactériostatique axée sur le blocage de la synthèse de l'acide folique (précurseur des bases azotées composant l'ADN et l'ARN). Les sulfamides inhibent la dihydrofolate-synthétase, une des enzymes nécessaires à la synthèse de l'acide folique. Les **diaminopyrimidines** (triméthoprime) inhibent la dihydrofolate-

réductase, autre enzyme nécessaire à la synthèse de l'acide folique. L'association de sulfaméthoxazole et de triméthoprime (nommée cotrimoxazole) a un effet synergique et un pouvoir bactéricide.<sup>(28, 29, 142)</sup>

### **V.9.c) Protocoles thérapeutiques préconisés**

#### **1) Traitement d'une brucellose aiguë non focalisée**

L'expérience clinique nous apprend que les traitements basés sur un seul antibiotique sont liés à un taux élevé d'échecs thérapeutiques.<sup>(1, 3)</sup> L'antibiothérapie de la brucellose repose donc sur une combinaison d'antibiotiques, et ce, pendant une durée prolongée afin d'éviter les rechutes.<sup>(1, 3, 23, 64, 110)</sup> L'association de plusieurs antibiotiques est très souvent efficace en phase aiguë.<sup>(21)</sup> L'OMS recommande l'association **soit** de doxycycline et de rifampicine durant 6 semaines, **soit** de doxycycline durant 6 semaines et de streptomycine durant 3 semaines.<sup>(2)</sup>

En France, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) préconise la prescription chez l'adulte de : rifampicine *per os* (900 mg par jour en 1 prise) et de doxycycline *per os* (200 mg en 1 prise).<sup>(22)</sup> En officine, la rifampicine est disponible en gélule de 300 mg ; la doxycycline en comprimé de 100 mg.<sup>(111)</sup>

Pour l'enfant de 8 ans ou plus, l'ANSM préconise : rifampicine *per os* (10 mg/kg/jour en 1 prise à 20 mg/kg/jour en 1 ou 2 prises) et doxycycline *per os* (4 mg/kg/jour en 1 prise).<sup>(22)</sup> Pour l'enfant de moins de 8 ans, les tétracyclines (telles que la doxycycline) sont contre-indiquées, notamment car à cet âge-là, elles sont susceptibles de colorer les dents de façon persistante.<sup>(1, 3, 29, 111)</sup> Pour les enfants de moins de 8 ans, le protocole recommandé est : rifampicine *per os* (10 mg/kg/jour en 1 prise à 20 mg/kg/jour en 1 ou 2 prises) associée au cotrimoxazole (6 à 8 mg/kg/jour de triméthoprime pour 30 à 40 mg/kg/jour de

sulfaméthoxazole en 2 prises).<sup>(22)</sup> En officine, la rifampicine et le cotrimoxazole sont disponibles en solution buvable, ce qui facilite l'adaptation de la posologie.<sup>(111)</sup>

Chez la femme enceinte, les tétracyclines et les aminosides sont contre-indiqués. L'administration de cotrimoxazole seul (ou associé à la rifampicine) est préconisée pendant 45 jours, et se révèle souvent efficace.<sup>(1, 3, 110, 112)</sup>

L'ANSM a également publié des recommandations spécifiques pour les personnes ne pouvant pas recevoir de traitement *per os*. Le cas échéant, l'administration de rifampicine et de doxycycline par voie intraveineuse (IV) en perfusion lente est le traitement de première intention. L'association de gentamicine et de doxycycline est une alternative thérapeutique.<sup>(22)</sup>

|                                 | <b>Rifampicine</b>                                    | <b>Doxycycline</b>   | <b>Cotrimoxazole (CTX)</b>                       |
|---------------------------------|---|--|--|
| <b>Adulte</b>                   | 900 mg/jour en 1 prise, à jeun                        | 200 mg/jour en 1 prise ; ne pas s'allonger dans l'heure      | -  |
| <b>Enfant de 8 ans ou plus</b>  | 10-20 mg/kg/j en 1 à 2 prise(s), à jeun de préférence | 4 mg/kg/j en 1 prise ; ne pas s'allonger dans l'heure        | -  |
| <b>Enfant de moins de 8 ans</b> | 10-20 mg/kg/j en 1 à 2 prise(s), à jeun de préférence | Contre-indiqué   | 6-8 / 30-40 mg/kg/j en 2 prises                  |
| <b>Femme enceinte</b>           | Parfois associé au CTX                                | Contre-indiqué   | Souvent efficace mais à utiliser avec précaution |
| <b>Traitement parentéral</b>    | 15 mg/kg/j, IV en 2 perfusions lentes (1h30)          | 200 mg/jour, IV en 2 perfusions lentes (au moins 60 minutes) | -  |

**Tableau 1 :** Traitement d'une brucellose aiguë.<sup>(22, 29, 110, 111, 112)</sup>

L'un des principaux facteurs de risque de survenue d'une rechute est le fait de « recevoir un traitement jugé moins efficace » (monothérapie ou bithérapie de trop courte durée).<sup>(2)</sup>

Dans le cadre d'une antibiothérapie prophylactique post-exposition, la durée de traitement recommandée par l'ANSM est de 21 jours. N'ayant pas fait l'objet d'études spécifiques, ce traitement prophylactique n'est toutefois pas officiellement validé.<sup>(22)</sup>

## **2) Traitement d'une brucellose focalisée**

Il n'existe pas de recommandations officielles pour traiter les brucelloses chroniques.<sup>(2)</sup> En pratique, le traitement des formes focalisées est basé sur les mêmes molécules que le traitement de la forme aiguë. La durée de prise des antibiotiques est plus longue : de deux mois minimum, elle peut se prolonger à plus de 6 mois.<sup>(1, 64)</sup> Une opération chirurgicale est parfois nécessaire pour traiter un foyer infectieux.<sup>(1, 64, 138)</sup> Une endocardite brucellique peut, par exemple, requérir un remplacement valvulaire.<sup>(1, 3)</sup>

### **V.9.d) Précautions d'emploi, interactions et contre-indications**

Un patient prenant de la **doxycycline** doit éviter de s'allonger dans l'heure suivant la prise, afin de limiter le risque d'ulcération œsophagienne. La doxycycline est fréquemment photo-sensibilisante. Elle provoque une coloration des dents et une hypoplasie de l'émail chez les jeunes enfants. Son association aux rétinoïdes est contre-indiquée. Cette molécule est contre-indiquée chez la femme enceinte, l'enfant de moins de 8 ans et chez les personnes souffrant d'hypertension intracrânienne.<sup>(29, 111)</sup>

La **rifampicine** a une résorption digestive presque totale, qui est toutefois réduite par les aliments. Lorsqu'elle est administrée par voie orale, elle doit donc être prise de préférence à jeun. La rifampicine colore les urines, ainsi que les larmes. Elle peut être hépatotoxique, d'où la nécessité d'une surveillance hépatique lors du traitement. Son association aux contraceptifs oraux, aux antiprotéases ou à l'atovaquone est contre-indiquée. <sup>(29, 111)</sup>

Le **cotrimoxazole** est une combinaison de deux molécules (sulfaméthoxazole et triméthoprime) ayant une bonne résorption digestive. Il peut induire des troubles hématologiques, principalement des neutropénies. Son utilisation sur une période prolongée doit s'accompagner d'une surveillance de la NFS. Chez 1 à 8 % des patients, le sulfaméthoxazole (classe des sulfamides) peut provoquer des réactions allergiques. Les sulfamides sont également photosensibilisants. L'association de ce médicament au méthotrexate (autre inhibiteur de la dihydrofolate-réductase) est contre-indiquée. Le cotrimoxazole peut interagir avec les sulfamides hypoglycémiantes : glibenclamide, gliclazide... En l'absence d'alternative, le cotrimoxazole est à utiliser avec précaution chez la femme enceinte, particulièrement lors du premier trimestre de grossesse (surveillance échographique avant 10 semaines d'aménorrhée ; supplémentation en acide folique). <sup>(29, 111, 157)</sup>

Les **aminosides** (gentamicine, streptomycine) sont administrés presque exclusivement par voie injectable, car leur résorption *per os* est très faible. Les administrations répétées par voie injectable peuvent être « lourdes à vivre » pour un patient. Les aminosides peuvent être ototoxiques, en particulier lors d'un traitement chronique ou prolongé. Un traitement de plusieurs semaines d'une brucellose focalisée par aminoside doit donc faire l'objet d'une grande vigilance face à la

plainte d'un patient. Les aminosides peuvent être néphrotoxiques. Leur posologie doit être adaptée en cas d'insuffisance rénale. <sup>(29, 111)</sup>

Il ne doit pas être oublié que d'une manière générale, les antibiotiques détruisent une partie de la flore bactérienne intestinale, productrice de vitamine K, ce qui peut déséquilibrer l'INR chez les patients traités par les anticoagulants appartenant à la famille de l'antivitamine K (AVK). <sup>(111)</sup>

## **V.10) Prophylaxie de la brucellose humaine**

### **V.10.a) La vaccination humaine, une piste abandonnée ?**

L'Institut Mérieux fabriquait autrefois une souche vaccinale de *Brucella abortus* B19 utilisable chez l'être humain, mais pouvant provoquer d'importants effets secondaires. Dans les années 1950, des campagnes de vaccination de masse ont été entreprises en URSS. En dehors de ce pays, ce vaccin était utilisé essentiellement sur les professionnels les plus exposés au risque : agriculteurs, vétérinaires... C'est, au moins en partie, la forte régression de la brucellose dans des pays comme la France qui a conduit à l'abandon de la fabrication de ce vaccin. En effet, dans un pays indemne de brucellose, le bénéfice d'une vaccination humaine devient infime, et le rapport bénéfice/risque défavorable (étant donné le pouvoir pathogène résiduel du vaccin). <sup>(1, 30, 55)</sup> Cependant, la menace d'une utilisation de *Brucella* comme arme biologique motive la poursuite de recherches portant sur la vaccination anti-brucellique humaine. <sup>(110)</sup>

Chez certaines personnes exposées aux animaux potentiellement contaminés, le rapport bénéfice/risque d'une vaccination anti-brucellique humaine pourrait être évalué. Dans le cas du massif du Bargy, les vétérinaires, les équarisseurs et les agents manipulant les bouquetins infectés tireraient peut-être

bénéfice d'une vaccination (tout comme, en dehors de la France, les professionnels évoluant dans des régions enzootiques), mais cela reste très incertain.

#### **V.10.b) Maîtrise de la brucellose animale**

La source quasi exclusive de contamination humaine est animale. C'est pourquoi, au-delà de la pasteurisation, la meilleure prévention de la brucellose humaine repose sur le contrôle de l'infection chez les animaux d'élevage. Dans la suite de cette thèse, nous constaterons qu'ayant fait ses preuves dans de nombreux pays, ce contrôle est couramment axé sur le dépistage, les abattages ciblés et la vaccination.

La brucellose est réputée infecter essentiellement la faune domestique, mais comme nous le verrons, certaines espèces sauvages peuvent constituer, de façon locale ou endémique, d'importants réservoirs de *Brucella*, susceptibles de contaminer, voire de re-contaminer, le bétail. Le cas échéant, la prévention humaine de la brucellose doit idéalement commencer en amont des élevages, par une éradication de l'agent pathogène dès son réservoir sauvage.

Quel que soit le contexte (cas humains, animaux domestiques ou sauvages), la compréhension et la maîtrise d'une épidémie de brucellose repose en grande partie sur un outil à plusieurs facettes, avec lequel nous allons faire plus ample connaissance : le test de dépistage.

## **VI) TESTS DE DÉPISTAGE DE LA BRUCELLOSE**

On distingue le dépistage direct (qui consiste à identifier la bactérie *Brucella*) du dépistage indirect (qui consiste à identifier des anticorps anti-brucelliques). Ces tests de dépistage sont cruciaux, car chez l'homme comme chez l'animal, le diagnostic clinique de la brucellose est souvent difficile.

Rappelons que la sensibilité d'un test de dépistage mesure sa capacité à donner un résultat positif lorsqu'un échantillon est réellement positif. Un test de sensibilité parfaite conduit à un résultat positif chez tous les individus contaminés ; et est utile pour s'assurer de l'absence d'une maladie. Dans un pays indemne de brucellose comme la France, parmi les centaines de milliers d'animaux testés chaque année, le moindre cas positif doit être détecté. Pour cela, le test utilisé doit avoir une bonne sensibilité.

La spécificité d'un test mesure sa capacité à donner un résultat négatif lorsque l'échantillon est réellement négatif. Un test de spécificité parfaite conduit à un résultat négatif chez tous les individus non contaminés ; et est utilisé en tant qu'examen de confirmation du diagnostic. Face à un patient ou à un animal présentant des symptômes caractéristiques de brucellose, on utilisera donc en priorité un test de bonne spécificité pour confirmer l'infection.

### **VI.1) Le dépistage direct**

#### **VI.1.a) Caractéristiques bactériologiques de *Brucella***

Comme toutes les bactéries, les *Brucella* sont des cellules procaryotes (sans noyau). Elles appartiennent au groupe des eubactéries, et au sous-groupe des

protéobactéries. Ce sont des bactéries intracellulaires facultatives pouvant se loger durablement dans les monocytes et les macrophages (cf. V.7).<sup>(1, 56)</sup>

Les *Brucella* ont une forme ovale, caractéristique des coccobacilles. Lors de la coloration de Gram, elles apparaissent roses, et font donc partie des bactéries Gram négatif (paroi pauvre en peptidoglycane et présence d'une membrane externe). Elles mesurent entre 0,6 et 1,5 µm de long pour 0,5 à 0,7 µm de large. Ce sont des bactéries aérobies strictes à croissance lente.<sup>(1, 3, 28)</sup>

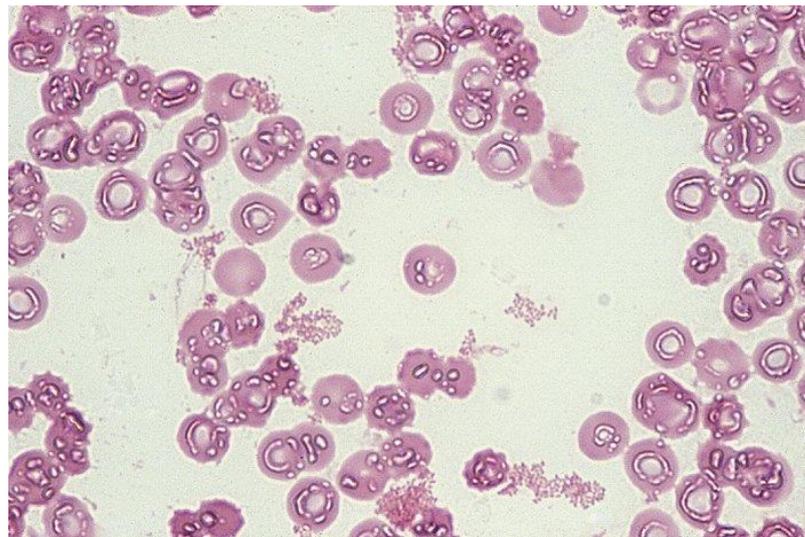
Un antigène caractéristique est retrouvé chez toutes les espèces de *Brucella*. Il s'agit du lipopolysaccharide (LPS). Celui-ci est immunogène, c'est-à-dire qu'il provoque généralement une réaction immunitaire. L'antigène LPS peut avoir un phénotype soit lisse (S-LPS pour Smooth) soit rugueux (R-LPS pour Rough). Selon les espèces bactériennes, on retrouve, à l'état naturel, plutôt l'un ou l'autre de ces phénotypes.<sup>(1, 56)</sup> Nous verrons, à travers cette thèse, que cet antigène a un rôle primordial dans la vaccination anti-brucellique et dans le dépistage de la maladie.

Toutes les brucelles ont un génome constitué de deux chromosomes circulaires, à l'exception de *Brucella melitensis* biovar 3 qui ne comprend qu'un seul chromosome circulaire de plus grande taille. Les séquences complètes des génomes de plusieurs espèces de *Brucella* sont connues.<sup>(1, 3, 56, 59)</sup>

*Brucella* était considérée comme non flagellée, avant que des travaux de recherche mettent en évidence l'existence de gènes flagellaires dans son génome. Récemment, un flagelle a d'ailleurs été observé chez *Brucella melitensis* au microscope électronique.<sup>(134, 135)</sup>

### VI.1.b) Mise en culture et identification bactérienne

Un prélèvement (généralement sanguin) est mis en culture sur un milieu enrichi en sang, à une température comprise entre 34 et 37 °C, dans une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>. La durée d'incubation nécessaire est de 2 à 3 semaines.<sup>(1,23)</sup> L'isolement de *Brucella*, à partir de cette culture, est la technique de référence pour établir un diagnostic de certitude.<sup>(1,2,3)</sup> Cependant, l'identification de *Brucella* est difficile, car ces bactéries ont une faible réactivité biochimique, si bien que des erreurs sont parfois commises. Lorsqu'une souche bactérienne est isolée, le genre *Brucella* peut être suspecté si plusieurs caractères cultureux sont réunis : colonies non hémolytiques de coccobacilles à Gram négatif, de croissance lente en milieu enrichi.<sup>(1,3)</sup>



**Figure 7 :** *Brucella* (hémoculture, coloration de Gram).

Source : Université de Franche-Comté, Besançon.

C'est généralement l'utilisation d'un sérum agglutinant anti-*Brucella* qui confirme l'identification.<sup>(1,3)</sup> Lors d'une brucellose aiguë, la sensibilité du diagnostic par hémoculture est d'environ 80 % ; ce chiffre chute à 50 % pour une forme subaiguë, et à 10 % pour une forme chronique.<sup>(2,3)</sup> La détermination de

l'espèce et du biovar est classiquement obtenue par l'étude de la sensibilité d'une souche à des colorants ou par l'utilisation de sérums agglutinants spécifiques. <sup>(1)</sup>

Ces manipulations doivent s'effectuer en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3, d'où l'obligation, pour le prescripteur de l'analyse, de signaler une suspicion de brucellose (cf. V.2).

### **VI.1.c) L'amplification génique par PCR**

Mise en œuvre dans certains laboratoires de référence, l'amplification génique par *Polymerase Chain Reaction* (PCR) est une technique permettant de dupliquer en grand nombre une séquence d'ADN ou d'ARN. En l'occurrence, cette méthode est utilisée pour détecter des séquences caractéristiques de l'ADN de *Brucella* (à partir de sang ou de sérum lors d'une brucellose aiguë ou à partir de suppurations lors d'une forme focalisée). Cette technique peut mettre en évidence *Brucella*, même lorsque les bactéries sont détruites ou en faible nombre. La PCR est spécifique, et a une sensibilité comprise entre 60 % et plus de 80 %. Elle s'avère être particulièrement utile lorsqu'une antibiothérapie empêche l'isolement de *Brucella*. Elle permet un diagnostic plus rapide que la mise en culture bactérienne, et a aussi l'avantage de présenter un plus faible risque de contamination pour les opérateurs, mais est plus coûteuse. En outre, les tests PCR sont ordinairement insuffisants pour identifier l'espèce de *Brucella* en cause. <sup>(1, 3, 23, 145)</sup>

La PCR est utilisée en paléontologie pour détecter d'infimes quantités d'ADN. C'est grâce à cette technique que des scientifiques ont identifié des fragments d'ADN de *Brucella* sur des ossements humains datant de plusieurs siècles. <sup>(25)</sup>

## VI.2) Le dépistage indirect

### VI.2.a) Principe

Les méthodes de dépistage indirect (ou sérologique) consistent à identifier des anticorps anti-brucelliques. Ceux-ci sont produits par l'organisme suite à un contact avec *Brucella*. La technique sérologique a été appliquée pour la première fois à la brucellose en 1897 par Almroth Wright, qui a donné son nom à la SéroAgglutination de Wright (SAW), encore utilisée aujourd'hui. <sup>(1, 3)</sup>

La détection des anticorps spécifiques est généralement réalisable 2 à 3 semaines après le début de l'infection. Les IgM sont les premières immunoglobulines à être décelables (et les premières à disparaître). Les IgG apparaissent trois à quatre semaines après l'infection, atteignent des titres maximum après deux à trois mois d'évolution de la maladie, puis leur taux diminue progressivement. Contrairement aux IgM, les IgG persistent en phase de brucellose chronique. <sup>(1, 3, 81)</sup>

Les réactions sérologiques utilisées pour diagnostiquer la brucellose sont nombreuses mais faillibles. En effet, des individus porteurs de la bactérie peuvent parfois entretenir des niveaux d'anticorps inférieurs aux seuils de détection des tests sérologiques, notamment lorsque le sérum est prélevé trop précocement après infection. <sup>(3, 153)</sup> Pour mettre en évidence une élévation des taux d'anticorps, il est primordial de prélever au moins deux sérums à trois ou quatre semaines d'intervalle. <sup>(3)</sup> De plus, il existe une parenté antigénique entre le LPS de *Brucella* et le LPS d'autres bactéries (*Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*...) pouvant expliquer de fausses réactions positives. <sup>(1, 3, 70)</sup> Pour confirmer un diagnostic, plusieurs tests sérologiques sont habituellement pratiqués.

La plupart de ces tests sont préparés à partir d'une suspension inactivée de *Brucella abortus*, et permettent de détecter principalement les anticorps dirigés contre le S-LPS. <sup>(1, 3)</sup> Si le sérum du patient contient des anticorps anti-brucelliques, ceux-ci réagissent avec l'antigène du test, et forment un agglutinat détectable. <sup>(28)</sup> La technique de détection de l'agglutinat est variable d'un test à l'autre. Selon les laboratoires, l'antigène et la technique utilisés, il existe une grande variabilité dans la mesure des titres sérologiques. <sup>(3)</sup> Sans être exhaustif, nous allons nous intéresser à trois tests fréquemment utilisés pour mettre en évidence des anticorps anti-brucelliques.

#### **VI.2.b) Séroagglutination de Wright (SAW)**

La technique de séroagglutination demeure la référence préconisée par l'OMS du fait de sa standardisation basée sur un sérum étalon international titré à 1000 UI. <sup>(1, 3)</sup>

Du sérum contenant des antigènes est placé dans des tubes à essai à différentes dilutions. Puis, le prélèvement biologique est introduit dans les tubes. Le mélange doit être incubé durant plusieurs heures à 37 °C. Si les anticorps recherchés sont présents, il y a formation d'un complexe, et modification de la coloration du tube. <sup>(66, 132)</sup>

La SAW met principalement en évidence les anticorps agglutinants de type IgM (plus accessoirement les IgG). Ce test se positive 7 à 15 jours après le début des signes cliniques, mais devient rapidement négatif en cas de guérison. <sup>(3, 23)</sup>

Le degré d'agglutination obtenu avec un sérum est exprimé en UI par millilitre. Au-delà de 30 UI par ml, un sérum est considéré comme positif. <sup>(132)</sup> La persistance d'un titre d'anticorps supérieur ou égal à 100 UI un an après le début

des symptômes peut être évocatrice d'un foyer bactérien profond. Des réactions faussement négatives peuvent être observées suite à une tularémie ou à une yersiniose... (3, 23)

### **VI.2.c) Épreuve de l'antigène tamponné (EAT)**

Prescrite pour les échanges internationaux de bétail, cette épreuve est une agglutination rapide utilisant un antigène coloré au rose Bengale. Si des anticorps anti-brucelliques sont présents dans l'échantillon, ceux-ci s'agglutinent avec l'antigène de l'épreuve, ce qui provoque une coloration. (27, 132)

L'antigène utilisé est préparé selon un protocole standardisé. L'EAT est une épreuve très sensible, révélant IgG et IgM, mais fait parfois apparaître de fausses réactions positives, et ne suffit donc pas, à elle seule, à poser un diagnostic de certitude. (27, 70, 132)

### **VI.2.d) Méthode immuno-enzymatique : ELISA**

Le test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) utilise des anticorps spécifiques couplés à des enzymes pour détecter des molécules dans un liquide de l'organisme. Si la molécule M recherchée est présente, un complexe « M – anticorps - enzyme » se forme. L'addition du substrat de l'enzyme au complexe « M – anticorps – enzyme » provoque une coloration. La molécule M recherchée peut être un anticorps ou un antigène. (28)

Pour la brucellose, il existe de nombreux tests ELISA différents. Très sensibles et très spécifiques, ces tests sont recommandés en zone indemne de brucellose. Ils permettent la détection des IgM, des IgG et des IgA. Un taux élevé d'anticorps IgA peut être évocateur d'un foyer profond évolutif. (1, 23, 27, 64, 70)

### VI.2.e) Dépistage laitier

Chez l'homme, l'allaitement maternel n'est pas une source de contamination.<sup>(1,2)</sup> Par contre, l'excrétion de brucelles dans le lait animal se produit, et s'accompagne souvent de la présence d'anticorps (cf. IV.3.a).<sup>(44)</sup> Les méthodes de dépistage sérologique sont donc applicables au lait des cheptels domestiques.

Le ring test s'effectue en mélangeant 1 millilitre de lait et une goutte d'antigène coloré. Si l'échantillon de lait contient des anticorps, il y a agglutination et formation d'un anneau bleu qui surnage en surface. Cette technique est accélérée par une incubation à 37 °C, et permet d'obtenir un résultat en 30 minutes.<sup>(64)</sup>

Le ring test est généralement effectué sur du lait de mélange. Dans les troupeaux de plus de 100 vaches, le test devient moins sensible.<sup>(132)</sup> Une réaction positive doit entraîner un examen sérologique individuel de tous les bovins du cheptel.<sup>(70)</sup>

### VI.3) Tableaux récapitulatifs

|           | Méthode  | Phase aiguë      | Brucellose focalisée | Forme chronique |
|-----------|--|------------------|----------------------|-----------------|
| Culture   | Mise en culture (prélèvement : sang)             | +++              | +                    | -               |
|           | Mise en culture (prélèvement : foyer infectieux) | -                | ++                   | -               |
| PCR       | PCR  | ++ (sang, sérum) | ++ (pus, tissu)      | -               |
| Sérologie | EAT  | +++              | +                    | -               |
|           | SAW  | +++              | +                    | -               |
|           | ELISA  | ++               | +++                  | ++              |

**Tableau 2 :** Principales méthodes utilisées pour le diagnostic de la brucellose.<sup>(1, 2, 3, 56)</sup>

| Méthode | Détection |          |          | Sensibilité | Spécificité | Utilisé pour |             | Réactions croisées |
|---------|-----------|----------|----------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------------|
|         | IgM       | IgG      | IgA      |             |             | l'humain     | les animaux |                    |
| EAT     | +         | +++      | -        | ++          | +++         | ++           | +++         | +++                |
| SAW     | +++       | +        | +        | +           | ++          | +++          | +           | +++                |
| ELISA   | Variable  | Variable | Variable | +++         | +++         | ++           | +++         | +++                |

**Tableau 3 :** Principales méthodes utilisées pour le sérodiagnostic de la brucellose.<sup>(2, 3, 56)</sup>

## VII. HISTORIQUE DE LA LUTTE CONTRE LA BRUCELLOSE EN FRANCE

### VII.1) La France non indemne de brucellose chez les suidés

Avant d'évoquer les années de lutte drastique contre la brucellose bovine (à *B. abortus*) et contre la brucellose ovine et caprine (à *B. melitensis*), commençons par faire un état des lieux de la brucellose porcine, zoonose endémique sur le territoire français.

Causée par *Brucella suis*, la brucellose porcine est une maladie réputée contagieuse depuis 1965. Au même titre que les cas bovins de brucellose, tous les cas porcins doivent être déclarés. 55 foyers de *B. suis* biovar 2 ont été recensés dans les élevages porcins français entre 1993 et 2008.<sup>(35)</sup>

En France, l'infection brucellique à *B. suis* biovar 2 est très largement répandue dans les populations de sangliers sauvages, avec une prévalence voisine de 40%.<sup>(40, 96)</sup> *B. suis* biovar 2 a également été identifiée chez des lièvres, mais la prévalence de l'infection reste inconnue chez cette espèce.<sup>(40)</sup> Minimiser les contacts entre les élevages porcins et la faune sauvage semble être actuellement le meilleur moyen de prévenir la propagation de *B. suis* en milieu domestique.

L'arrêté du 15 mars 2002 prévoit l'abattage total d'un troupeau infecté par *Brucella suis*, et ce, quel que soit le biovar en cause.<sup>(35, 36)</sup> En 2005, un nouvel arrêté établit des différences de gestion entre les foyers porcins à *B. suis* biovar 2 (peu pathogène pour l'homme) et les foyers à *B. suis* biovar 1 et 3 (fortement pathogènes pour l'homme, mais absents en France).<sup>(1, 35, 37)</sup> Ces arrêtés réglementent les conditions d'élevage des porcs, notamment l'étanchéité des enclos, afin de limiter le plus efficacement possible les contacts entre animaux domestiques et sangliers.<sup>(35, 36, 37)</sup>

La brucellose porcine affecte la reproduction des porcs. La pathogénicité humaine de *B. suis* biovar 2 est très inférieure à celle de *Brucella melitensis*. En France, la « souche porcine » est surtout dangereuse pour la santé des patients immunodéprimés. Globalement, la brucellose humaine à *B. suis* biovar 2 reste marginale. <sup>(1, 2, 38, 39)</sup>

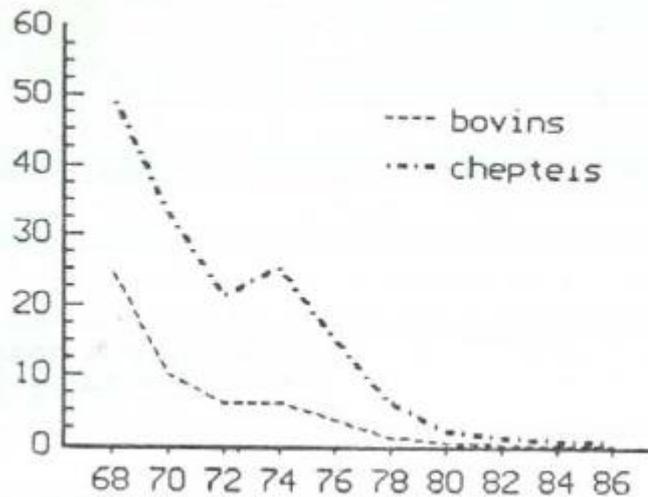
## **VII.2) 1970 – 2005, une lutte efficace conduisant à « l'éradication » de la brucellose bovine, ovine et caprine**

En France, la brucellose humaine est en forte régression depuis plusieurs décennies, et ce, grâce à une maîtrise de la brucellose animale articulée autour de la vaccination et de la surveillance (clinique et sérologique) des cheptels.

### **VII.2.a) Prophylaxie médicamenteuse : la vaccination**

Dans les années 1960, environ la moitié des cheptels bovins français sont infectés par *Brucella*. <sup>(71, 147)</sup> Compte tenu de la promiscuité des animaux d'élevage, cette bactérie se transmet aisément d'un animal à l'autre : par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive ou vénérienne... <sup>(70)</sup> Pour lutter contre l'épizootie, la vaccination est rendue obligatoire en 1975 pour les bovins (en 1977 pour les caprins et en 1981 pour les ovins). <sup>(3, 26)</sup>

Le nombre de nouveaux cas de brucellose bovine régresse rapidement. En 1984, la brucellose ne touche, chaque année, plus qu'environ 0,5 % des troupeaux bovins français. <sup>(2, 147)</sup> L'intérêt de la poursuite de la vaccination bovine est alors remis en question.



(Source : Services vétérinaires de la Santé et de la Protection animale)

**Figure 8 :** Évolution du pourcentage de bovins et de cheptels bovins infectés par *Brucella*, en France, entre 1968 et 1986. Source : BEH. <sup>(147)</sup>

La poursuite du dépistage après la vaccination est nécessaire, car dans une faible proportion, des animaux vaccinés peuvent, par la suite, devenir infectés. <sup>(27)</sup> Or, un animal vacciné produit des anticorps semblables aux anticorps produits par un animal infecté, si bien que le vaccin a l'inconvénient de fausser certains tests de dépistage sérologique, « de créer de nombreux faux positifs ». <sup>(27, 132)</sup>

Lorsque la prévalence de la maladie est élevée, l'éradication de tous les animaux infectés est quasi irréalisable. La priorité est donc d'immuniser un grand nombre d'individus contre l'infection ; ce qui, à terme, réduit l'incidence de la brucellose.

Lorsque la prévalence de la maladie devient faible, l'éradication de tous les animaux infectés devient réalisable. La priorité n'est plus de vacciner la population, mais de détecter toutes les sources de contamination, puis de les maîtriser. Étant donné que la vaccination perturbe fortement le dépistage des animaux contaminés, *le fait d'arrêter la vaccination* permet une identification et une éradication plus

rapides des sources infectieuses restantes ; ce qui peut conduire à la disparition de la brucellose sur un territoire.

C'est pourquoi, en 1984, les autorités sanitaires françaises décident de passer de l'obligation vaccinale à l'interdiction vaccinale des bovins.<sup>(26, 52)</sup> Dès lors, la lutte contre la brucellose ne repose plus que sur la surveillance clinique et sérologique des cheptels.

### **VII.2.b) Prophylaxie sanitaire : surveillance clinique événementielle**

Les symptômes évocateurs de la brucellose doivent être surveillés par les éleveurs et les vétérinaires, qui jouent ainsi un rôle prophylactique crucial.

Aspects cliniques de la brucellose chez les bovins. *Brucella* commence par se multiplier dans les nœuds lymphatiques de la porte d'entrée. Puis, au bout de quelques jours, la dissémination lymphatique débute ; cette phase est asymptomatique. La bactérie peut ensuite se focaliser (généralement dans les tissus lymphatiques de la sphère génitale ou mammaire). Ces focalisations apparaissent au bout de quelques mois ; elles peuvent s'accompagner de symptômes cliniques et de l'excrétion de *Brucella*.<sup>(70)</sup> Les symptômes les plus fréquemment observés sont : l'avortement chez les femelles (on parle même « d'avortements épizootiques ») ; et dans une moindre mesure, l'orchite chez les mâles et l'arthrite chronique. À de rares exceptions près, une femelle infectée n'avorte qu'une fois.<sup>(70, 74)</sup> Cependant, lors des gestations suivantes, l'utérus est généralement à nouveau colonisé par les brucelles, qui sont excrétées dans les fluides de la mise-bas.<sup>(145)</sup> À terme, l'action du système immunitaire réduit les symptômes, mais les brucelles sont des bactéries intracellulaires facultatives pouvant persister plusieurs années dans certains sites focalisés.<sup>(1, 70)</sup>

Aspects cliniques de la brucellose chez les petits ruminants (chèvres et moutons). Les étapes de l'infection sont analogues à celles de la brucellose bovine. La manifestation clinique la plus caractéristique est aussi l'avortement. Habituellement, les moutons se débarrassent plus facilement de l'infection que les bovins. Les chèvres ont tendance à être infectées durablement, tout en présentant peu de signes cliniques. <sup>(70)</sup>

Programme de surveillance événementielle (bovins, ovins, caprins). Pouvant être l'élément révélateur d'un foyer de brucellose, les avortements font l'objet d'une attention particulière. <sup>(70)</sup> Ils doivent être obligatoirement déclarés, et conduire à une investigation étiologique. La femelle doit être isolée du reste du troupeau, puis testée sérologiquement. Des prélèvements de l'écouvillon du col de l'utérus doivent être effectués. En cas de sérologie positive, une analyse bactériologique est réalisée sur l'écouvillon. Elle permettra, le cas échéant, de poser un diagnostic de certitude. <sup>(32, 70)</sup>

Au-delà de son impact sur la fertilité, la brucellose est souvent bénigne chez les bovins et les petits ruminants, et peut donc passer inaperçue. C'est pourquoi la surveillance clinique des cheptels est insuffisante. (Précisons que des animaux asymptomatiques peuvent être excréteurs de la bactérie.) <sup>(70, 74, 145)</sup>

### **VII.2.c) Prophylaxie sanitaire : surveillance sérologique programmée**

Depuis plusieurs décennies, un important programme de surveillance sérologique est maintenu, afin de détecter le plus précocement possible tout nouveau foyer de brucellose.

Des dépistages sérologiques de prophylaxie sont régulièrement organisés sur les troupeaux, notamment le ring test sur le lait de mélange (cf. VI.2.e). Ainsi,

en 2011, sur 232 520 exploitations bovines françaises, 213 065 ont été soumises à analyse, soit plus de 90 %. Lorsqu'un contrôle est positif, un nouveau contrôle est mené afin d'éliminer « les très nombreux faux positifs ». <sup>(2, 32)</sup> Si un animal est reconnu infecté, il est abattu, puis des recherches de *Brucella* sont réalisées sur ses ganglions par culture bactériologique. <sup>(32)</sup> Si la bactérie est mise en évidence, le cheptel est reconnu infecté, puis placé sous Arrêté Préfectoral portant Déclaration d'Infection (APDI). Si les souches les plus pathogènes (*Brucella abortus* ou *Brucella melitensis*) sont isolées ou s'il y a eu un avortement brucellique, l'intégralité du troupeau est abattue. <sup>(32, 33)</sup> Dans les pays de l'UE, des indemnités à l'abattage sont prévues. <sup>(2)</sup> Avant 2002, l'abattage du troupeau était fréquent, mais moins systématique qu'aujourd'hui. <sup>(35, 36, 70)</sup> L'exploitation doit ensuite être nettoyée et désinfectée. Le lait du troupeau obtenu avant la déclaration de l'infection est également soumis à une réglementation très stricte, afin de limiter au maximum le risque de contamination humaine. <sup>(33)</sup> Dans l'environnement du troupeau infecté, les autres espèces potentiellement réceptives à la brucellose (chiens, petits ruminants) doivent être surveillées, et sont éliminées en cas d'infection. <sup>(70)</sup>

Un élevage est considéré comme suspect si le mouvement de certains animaux le met « en lien épidémiologique » avec un troupeau infecté. Il fait alors également l'objet d'une investigation. Quant aux pâturages fréquentés par un animal contaminé, ils sont réputés dangereux pendant au moins deux mois. <sup>(32, 71)</sup>

Sur l'année 2011, l'État français a engagé près de 3,6 millions d'euros pour la surveillance de la brucellose bovine, et ce, en l'absence de cas observés depuis 2003. <sup>(32)</sup> Ces dépenses ne sont pas vaines puisqu'elles permettent de détecter, en 2012, deux foyers de brucellose bovine, avant que la zoonose ne s'étende. <sup>(43)</sup> Le

coût de la lutte contre la brucellose est donc à mettre en balance avec le coût des conséquences d'une absence de lutte. On estime, par exemple, qu'en France, la brucellose était responsable, sur l'année 1962, de pertes supérieures à 120 millions d'euros. <sup>(70)</sup>

Sur le plan international, lorsque les ressources financières disponibles sont suffisantes, les protocoles sanitaires adoptés par les différents pays sont assez semblables aux protocoles français. Les mesures de prophylaxie sont en général basées sur la vigilance clinique, le dépistage sérologique, l'abattage des troupeaux infectés, et sur une campagne vaccinale (qui est abandonnée lorsque la prévalence devient faible, c'est-à-dire inférieure à 1 %). <sup>(52)</sup>

#### **VII.2.d) À l'étranger : des méthodes alternatives ? L'antibiothérapie**

En Arabie Saoudite, un grand troupeau de dromadaires a fait l'objet d'une étude publiée dans la *Revue scientifique et technique de l'OIE* en 1995. Les 2536 animaux de ce troupeau ont été testés sérologiquement par SAW et EAT (cf. VI.2). La séroprévalence observée était de 8 % ; ce qui correspondait, en 1995, aux valeurs habituellement observées dans les troupeaux de dromadaires du centre de l'Arabie Saoudite. Après mise en culture, *Brucella melitensis* a été isolée dans le lait de 34 % des femelles séropositives. <sup>(121)</sup>

Contrairement aux protocoles appliqués dans les troupeaux domestiques français, les 202 animaux séropositifs n'ont pas été abattus, mais traités par des antibiotiques administrés par voie intramusculaire. De l'oxytétracycline leur a été injecté tous les deux jours pendant 1 mois, et de la streptomycine (aminoside) tous les deux jours pendant 16 jours. Les femelles allaitantes ont, en outre, reçu une injection intra-mammaire d'oxytétracycline un jour sur deux pendant huit jours.

Suite à ce traitement, les excréments de *Brucella* sont devenues quasi nulles. Les auteurs de cette étude estiment que l'antibiothérapie est une mesure pertinente et relativement peu coûteuse dans les zones de forte endémie comme l'Arabie Saoudite. <sup>(121)</sup>

Quant aux 2331 dromadaires séronégatifs, ils ont été vaccinés par voie sous-cutanée avec la souche Rev. 1 de *Brucella melitensis* (à dose complète pour les jeunes ; à dose réduite pour les adultes). Des anticorps anti-*Brucella* ont été détectés chez les dromadaires 2 à 4 semaines après la vaccination, puis ont diminué jusqu'à ne plus devenir détectable en moins d'un an. Après vaccination, aucune *Brucella* n'a été mise en évidence dans les prélèvements mammaires effectués sur les femelles allaitantes, et aucun avortement n'a été observé. Cependant, la durée de la protection vaccinale des dromadaires reste inconnue. <sup>(121, 123)</sup>

Au final, ce protocole de gestion, *a priori* compatible avec un suivi sérologique post-vaccinal, aboutit à une forte régression de l'infection sans recours à des mesures d'abattages. Ces méthodes sont cependant moins efficaces que l'abattage total d'un élevage infecté, qui, dans un pays indemne de brucellose, semble être le meilleur moyen d'éviter de voir resurgir la maladie.

#### **VII.2.e) Importance du statut *officiellement indemne de brucellose***

L'application d'une prophylaxie vaccinale et sanitaire durant plusieurs décennies permet à la France d'être reconnue officiellement indemne de brucellose bovine par la Commission européenne en 2005. <sup>(67)</sup> S'appuyant sur les mêmes méthodes de gestion, la lutte contre la brucellose des petits ruminants porte également ses fruits : en 2006, 64 départements français en sont reconnus officiellement indemnes. Puis en 2014, ce sont tous les départements de France

métropolitaine qui obtiennent ce statut, à l'exception des Pyrénées-Atlantiques (en raison du maintien d'un programme local de vaccination).<sup>(73)</sup>

En Union Européenne (UE), les critères d'éligibilité d'une zone au statut *officiellement indemne de brucellose bovine* sont notamment : 1°) l'absence d'avortement brucellique ou d'isolement de *Brucella abortus* depuis trois ans au moins ; 2°) un minimum de 99,8 % des troupeaux officiellement indemnes au cours des 5 dernières années ; 3°) la notification obligatoire des avortements ; 4°) une campagne de dépistage pratiquée sur tous les bovins de plus de douze mois ; 5°) l'absence de vaccination du bétail (pour ne pas fausser le dépistage)...<sup>(2, 70, 144)</sup>

Au 31 juillet 2012, les États membres officiellement indemnes de brucellose bovine sont : l'Allemagne, l'Autriche, la Belgique, le Danemark, l'Estonie, la Finlande, la France, l'Irlande, la Lettonie, le Luxembourg, les Pays-Bas, la Pologne, la République Tchèque, la Slovaquie, la Slovénie et la Suède. Certaines régions d'Espagne, d'Italie, du Portugal et du Royaume-Uni sont reconnues indemnes de brucellose bovine.<sup>(71)</sup>

En UE, la qualification *officiellement indemne de brucellose bovine* est obligatoire pour : 1°) commercialiser du lait cru ; 2°) vendre des animaux destinés à l'élevage ; 3°) transporter des bovins hors d'une exploitation.<sup>(71)</sup> La conservation du statut « indemne » a donc une importance économique majeure pour le monde agricole.

La détection du moindre cas de brucellose bovine peut faire perdre à un territoire ce statut, bloquer les mouvements de bétail, entraîner un arrêt de la commercialisation de spécialités au lait cru... À ces enjeux territoriaux s'ajoute l'impact direct de la maladie sur le moral et les finances des agriculteurs dont le troupeau est abattu.

Dans un pays qui n'est plus touché par la maladie, la poursuite de la surveillance est destinée, d'une part, à apporter la preuve du maintien du statut *officiellement indemne de brucellose* (garantie sanitaire pour les consommateurs de l'UE) ; d'autre part, à permettre une détection précoce de toute réapparition de l'infection. <sup>(67)</sup>

Pendant près de dix ans, aucun cas de brucellose bovine, ovine ou caprine n'a été détecté en France métropolitaine. <sup>(73, 75)</sup> Mais en 2012, la brucellose fait sa réapparition dans deux cheptels bovins, qui menacent donc le statut *officiellement indemne de brucellose bovine* du pays. Le premier élevage contaminé est détecté en mars 2012 dans le Pas-de-Calais. L'introduction dans le troupeau d'un bovin provenant de Belgique est à l'origine de l'infection. Parallèlement, 4 foyers bovins à *B. abortus* sont détectés en Belgique, pays théoriquement indemne de brucellose. <sup>(71)</sup> Le second élevage bovin contaminé est détecté en avril 2012 en Haute-Savoie, et va être l'élément révélateur d'une vaste épizootie chez les ruminants sauvages... <sup>(114)</sup>

## VIII. 2012 – 2016, DÉCOUVERTE ET GESTION D’UN RÉSERVOIR PRIMAIRE DE *B. MELITENSIS* DANS LA FAUNE SAUVAGE

### VIII.1) Contexte de la découverte d’un foyer de brucellose en Haute-Savoie

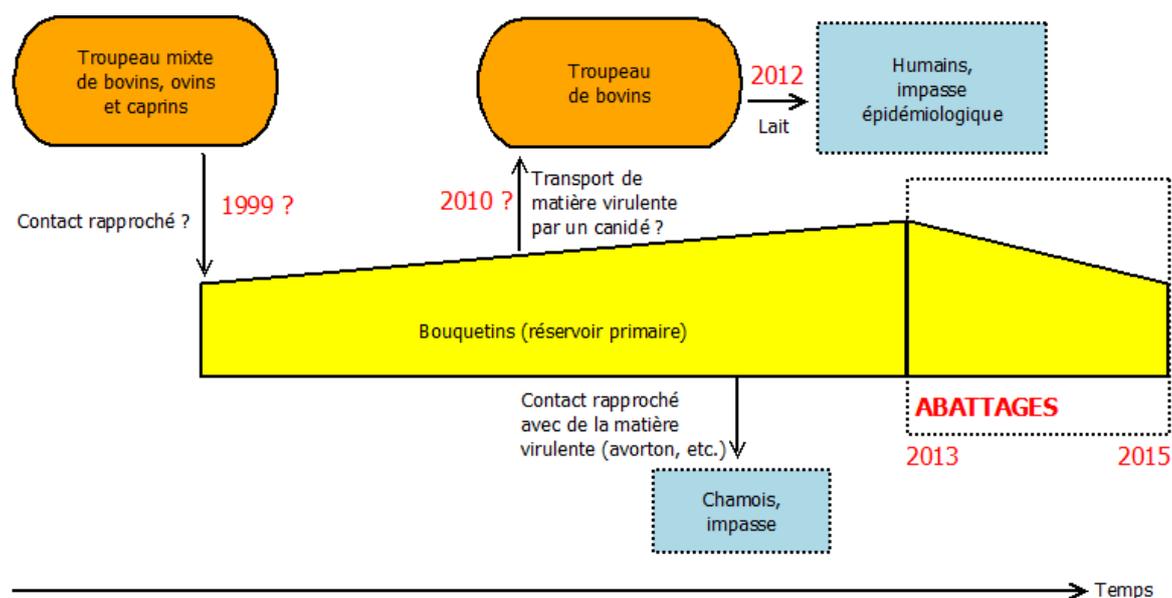
En avril 2012, une vache « laitière » avorte dans un troupeau du massif alpin du Bargy, en Haute-Savoie...<sup>(114, 146)</sup> Étant donné qu’un tel événement peut être révélateur d’une infection brucellique, l’élevage en question fait dès lors l’objet d’une surveillance particulière... qui conduit à l’isolement d’une souche de *Brucella melitensis* biovar 3 dans le lait de la vache ayant avorté.<sup>(32, 42, 43, 114)</sup> Habituellement, c’est plutôt *Brucella abortus* qui infecte les bovins.<sup>(1, 56, 71)</sup> Plus couramment détectée chez les petits ruminants (caprins et ovins), *B. melitensis* est considérée comme la *Brucella* la plus pathogène pour l’humain.<sup>(1, 71, 110)</sup>

La bactérie est également retrouvée dans des prélèvements biologiques effectués sur une seconde vache.<sup>(42, 43)</sup> Trois autres bovins sont reconnus infectés par amplification génique par PCR (cf. VI.1.b).<sup>(42, 43)</sup> Comme la loi le prévoit, l’intégralité du troupeau est abattue.<sup>(32)</sup> Une enquête épidémiologique établit qu’un enfant s’est contaminé, quelques mois plus tôt, en consommant un fromage au lait cru issu de ce troupeau (autre qu’un reblochon, spécialité locale).<sup>(42, 43, 114)</sup> Il s’agit, sur le territoire français, du premiers cas autochtone lié à la consommation d’un produit laitier depuis plus de dix ans.<sup>(5)</sup>

Jusqu’à cette découverte, la Haute-Savoie était considérée comme indemne de brucellose depuis 1999, année de recensement du dernier foyer brucellique du département (même souche : *B. melitensis* biovar 3 ; même massif ; troupeau mixte : bovins, ovins, caprins).<sup>(42, 146)</sup>

Des investigations sont menées afin de comprendre comment ce troupeau bovin s'est infecté. Des dépistages sérologiques sont organisés sur les ruminants domestiques et sur les ruminants sauvages : cerfs, chevreuils, chamois...<sup>(42)</sup> Ils mettent en évidence que de nombreux bouquetins (ongulés sauvages) sont infectés par *Brucella melitensis* biovar 3. Dès lors, l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES) avance l'hypothèse que les bouquetins ont assuré un relais silencieux entre l'infection domestique de 1999 et celle de 2012.<sup>(42, 43)</sup>

Les bouquetins du massif du Bargy constituent un réservoir de *Brucella melitensis* d'une ampleur inédite dans la faune sauvage française. En 2013, sur 54 bouquetins testés, 19 se révèlent séropositifs, ce qui situe la séroprévalence observée aux alentours de 35 % [IC à 95 % = 22-48 %].<sup>(42)</sup>



**Figure 9 :** Schéma épidémiologique de la zoonose à *B. melitensis* dans le massif du Bargy, d'après l'ANSES.<sup>(42, 43)</sup>

Le nombre de bouquetins du massif du Bargy est difficile à évaluer. Les autorités sanitaires l'ont d'abord estimé à environ 300, puis à plus de 600...<sup>(42, 43)</sup> Agir sur un nombre indéterminé d'animaux sauvages pouvant « se jucher » sur des falaises est plus complexe que d'éradiquer un troupeau domestique ; commence

alors à se poser la question de la gestion de cet « indomptable réservoir » de *Brucella melitensis*... avec lequel nous allons faire connaissance.

## VIII.2) Le bouquetin, un réservoir atypique de *Brucella*

### VIII.2.a) Un réservoir inédit chez les ongulés de montagne

Avant la détection de ce foyer haut-savoyard, des cas de brucellose avaient déjà été observés chez les bouquetins, mais il s'agissait de cas très sporadiques. Les ongulés sauvages de montagne (bouquetins, chamois, mouflons) étaient jusque-là considérés comme des *impasses évolutives* pour *Brucella*.<sup>(43, 115, 116, 146)</sup> Avant 2012, dès lors qu'une infection à *B. melitensis* était éradiquée au sein des troupeaux domestiques, on constatait que l'infection brucellique ne pouvait pas perdurer chez les ongulés sauvages de montagne.<sup>(42, 116, 146)</sup> Pour l'ANSES, « plusieurs publications mentionnent le caractère sporadique/accidentel des cas de brucellose identifiés en Europe sur les ongulés de montagne » ; « selon certains auteurs, [de telles infections] évoluent vers l'extinction spontanée à l'échelle d'une génération d'animaux. Les données du Bargy sont en totale rupture avec ce constat, sans qu'il soit possible d'en identifier les raisons. »<sup>(43, 146)</sup>

Seul précédent connu : entre 1998 et 2005, dans la vallée de l'Orco (parc naturel italien du Grand Paradis), un foyer brucellique a été détecté et étudié chez des bouquetins (avec une prévalence de 17 % contre 35 % dans le Bargy). Ce foyer s'est éteint de lui-même, sans intervention humaine. Les bouquetins contaminés présentaient généralement des symptômes morbides, mouraient rapidement, ce qui aurait contribué à arrêter naturellement la propagation de l'infection.<sup>(42, 113, 155)</sup>

À l'inverse et à la surprise du monde scientifique, dans le massif du Bargy, les bouquetins infectés sont fréquemment asymptomatiques ou pauci-

symptomatiques. Des arthrites et des orchites sont parfois observées chez certains individus. Il est très probable que des avortements brucelliques se produisent. Mais globalement, les bouquetins du Bargy survivent bien à l'infection ; ce qui favoriserait l'entretien du cycle de la bactérie, et donc la propagation de la brucellose dans le massif. <sup>(42, 43)</sup> En somme, le caractère primaire du réservoir brucellique formé par cette population d'ongulés sauvages de montagne semble inédit.

Deux chamois contaminés par *Brucella melitensis* ont été identifiés dans le Bargy entre 2012 et 2014. Ces deux chamois présentaient des symptômes morbides. Chez cette espèce, la séroprévalence serait inférieure à 2 % dans le massif haut-savoyard. Il semble admis que le chamois constitue un *cul-de-sac épidémiologique* pour la brucellose dans le massif du Bargy ; ce qui coïncide avec les schémas habituellement rencontrés chez les ongulés sauvages de montagne. <sup>(42, 43, 115, 116, 146)</sup>

### **VIII.2.b) Le bouquetin, un animal sauvage difficile à étudier**

La gestion d'une épizootie de brucellose affectant des bouquetins pose d'importants problèmes techniques. Ces mammifères sauvages passent une partie de leur temps sur des falaises rocheuses, pouvant être difficiles d'accès pour des êtres humains. De plus, dans le massif du Bargy, les femelles (nommées étagnes) sont plus contaminées que les mâles, et ce sont elles qui ont le plus tendance à se réfugier en falaise, notamment pour protéger leur petit (nommé cabri). <sup>(42, 43, 79)</sup>

Lorsque les bouquetins sont dans des endroits accessibles, il est généralement possible de les approcher de quelques dizaines de mètres, voire de quelques mètres. <sup>(76, 79)</sup> Cependant, ces animaux ne se laissent pas toucher par l'homme. Opérer des prélèvements sanguins sur cette espèce nécessite, pour le

moment, une télé-anesthésie. Celle-ci n'est possible qu'à moins de 25 mètres de distance. Selon l'ANSES, d'autres techniques de capture, potentiellement plus efficaces, sont à examiner.<sup>(43)</sup> Par exemple, des cerfs et des chevreuils sont capturés, en montagne, à des fins d'études par le biais d'appâts, de filets tombants, de lacets à patte, de pièges, de rabatteurs...<sup>(152)</sup> Autre problème : manipuler des animaux contaminés n'est pas sans danger pour le personnel de terrain (cf. IV).<sup>(43)</sup>

Il est très difficile de repérer tous les bouquetins d'une population, surtout dans le massif du Bargy, où certains individus passent du temps dans des zones forestières.<sup>(42)</sup> Ainsi, en 2013, l'ANSES a sous-estimé les effectifs de bouquetins du massif.<sup>(42, 43)</sup> En somme, le caractère sauvage de l'espèce complique grandement l'étude et la gestion de ce réservoir de brucellose.



**Photographie 1 :** Le bouquetin se perche parfois dans des endroits difficiles d'accès pour les humains, ce qui complique la télé-anesthésie de l'animal.

### **VIII.2.c) Un animal dont la gestion est conditionnée par la loi**

Le bouquetin des Alpes, *Capra ibex ibex*, est un mammifère protégé par la loi française et par la Convention de Berne relative à la conservation de la vie sauvage.<sup>(77, 117)</sup> Son immobilisation, sa capture et son abattage sont interdits sur le territoire français, sauf sur dérogation.<sup>(77, 78)</sup> Ces dérogations ne peuvent être accordées que suite à la consultation du Conseil National de Protection de la Nature (CNP), après un délai d'attente.<sup>(77, 78)</sup> Le fait que la brucellose affecte une espèce ainsi protégée complique donc la gestion de la crise sanitaire du massif du Bargy. Le chamois, le mouflon, le cerf ou le chevreuil sont des ongulés chassables, dont l'éventuelle gestion sanitaire ne nécessiterait pas tant de « démarches administratives ».

### **VIII.2.d) Raisons historiques de la protection du bouquetin**

Il est important de considérer quelques éléments historiques afin de mieux comprendre pourquoi le bouquetin des Alpes est une espèce protégée.

Le bouquetin est un animal sauvage, très habile sur les pentes rocheuses. Sa présence sur le territoire français est ancienne : sa silhouette (caractérisée par ses deux longues cornes) orne les grottes de Lascaux depuis plusieurs milliers d'années. Pour se protéger des prédateurs, le bouquetin ne se lance pas dans des courses folles comme le chamois : il se perche dans des endroits difficiles d'accès. Cette technique peut lui permettre d'éviter les crocs d'un loup, mais s'avère moins efficace contre les balles d'un fusil, si bien que la prolifération des armes à feu s'est accompagnée d'un déclin massif de l'espèce, puis de sa quasi-extinction... Jusqu'à ce qu'en 1856, le duc de Savoie (futur roi d'Italie), Vittorio-Emanuele II, surnommé « le père des bouquetins », décide de protéger les derniers spécimens du

massif italien du Grand Paradis (qui jouxte le massif français de la Vanoise). La population mondiale de *Capra ibex* est alors inférieure à 100 individus. <sup>(45, 76, 79, 118)</sup>

D'importants efforts sont fournis pour préserver et restaurer l'espèce. <sup>(45)</sup> En vue de futures réintroductions, des cabris sont parfois volés par des braconniers (qui les transportent dans des hottes en tenant du lait au chaud contre leur poitrine). Avant d'être relâchés, ces animaux capturés sont généralement « élevés » en captivité et nourris au biberon. <sup>(76)</sup> En Suisse, le parc d'élevage de Sankt-Gallen permet ainsi « d'alimenter » une réserve de bouquetins sur le Mont Pleureur. <sup>(43)</sup>



**Photographie 2** : Bouquetin des Alpes, mâle adulte.

En 1963, la sauvegarde du bouquetin joue un rôle crucial dans la création du premier Parc Naturel National français : la Vanoise. C'est à partir de la réserve naturelle franco-italienne « Vanoise et Grand Paradis » et de la réserve

« reconstituée » du Mont Pleureur que de larges campagnes de réintroduction sont menées dans toutes les Alpes. L'animal est protégé, interdit de chasse, et « recolonise » progressivement les montagnes. En Haute-Savoie, 23 lâchers sont effectués entre 1967 et 1978, dont trois dans le massif du Bargy entre 1974 et 1976. <sup>(43, 45, 76)</sup>

Ce statut de protection a été nécessaire à la sauvegarde et à la restauration de l'espèce. Aujourd'hui, le Groupe National Bouquetins recense environ 50 000 individus sur l'ensemble des Alpes, dont 10 000 dans les Alpes françaises. L'espèce n'est plus en danger d'extinction. Dans certains massifs, des populations de bouquetins seraient même « proches de la saturation démographique ». <sup>(43, 45, 118, 120)</sup>

La situation sanitaire du massif du Bargy confronte donc les efforts liés à la protection d'une espèce aux efforts de lutte contre une grave zoonose.

### **VIII.3) Modes de contamination intra- et inter-espèces**

#### **VIII.3.a) Transmission de bouquetin à bouquetin**

Selon les études épidémiologiques de l'ANSES, les bouquetins se contamineraient fréquemment par voie vénérienne. Ainsi, avant toute intervention humaine, la prévalence de l'infection était nettement plus élevée chez les bouquetins dont le sexe et l'âge correspondent aux animaux participant à la reproduction. <sup>(42, 43, 146)</sup> Ce mode de contamination principalement vénérien expliquerait que la maladie ait évolué au sein de l'espèce bouquetin, presque sans se transmettre aux autres espèces animales du massif. <sup>(146)</sup>

S'appuyant sur les connaissances relatives à la brucellose des espèces domestiques, d'autres modes de transmission sont évoqués par l'ANSES. Les

produits d'avortement brucellique seraient très contaminants ; et un environnement souillé par ces produits est susceptible d'infecter d'autres animaux.<sup>(43)</sup> *Brucella abortus* pourrait ainsi résister, par temps frais, jusqu'à 75 jours sur un fœtus avorté.<sup>(119)</sup> En l'absence d'avortement, une mère brucellique pourrait transmettre l'infection à son cabri soit lors de la gestation (transmission verticale) soit lors de la mise-bas ou de la lactation (transmission pseudo-verticale). En outre, la mise-bas d'une femelle infectée peut induire l'excrétion de produits utérins post-partum infectieux.<sup>(43)</sup>

*Brucella melitensis* a été détectée dans l'urine de bouquetins, mais la transmission de la maladie par contact avec un environnement souillé par une miction est considérée comme négligeable, car la survie de ces bactéries est courte dans l'urine, et encore plus courte après dispersion sur le sol, sans matrice organique.<sup>(43)</sup> Ainsi, *Brucella abortus* ne survit que 4 jours dans l'urine, et seulement quelques heures « à l'état libre », sous une exposition directe à la lumière du soleil.<sup>(119)</sup> Depuis plusieurs années, l'urine est d'ailleurs considérée comme un mode de contamination très peu probable entre ruminants domestiques.<sup>(43)</sup> En outre, *Brucella* est peu présente dans les fèces.<sup>(71)</sup>

Au final, pour les bouquetins du massif du Bargy, les trois grandes périodes de transmission de la brucellose seraient donc la fin de l'automne (rut), le printemps (avortement) et le début de l'été (mise-bas).<sup>(43)</sup>

### **VIII.3.b) Risque de transmission aux autres espèces**

La brucellose est une orthozoonose, c'est-à-dire qu'une seule espèce animale est nécessaire à l'entretien de *Brucella* (cf. III.3). Toutefois, la bactérie peut occasionnellement « rencontrer » d'autres espèces animales, et ainsi créer de nouveaux réservoirs.<sup>(30)</sup> Dans le massif du Bargy, il est vraisemblable qu'avant les

années 2000, un troupeau mixte (de vaches, de chèvres et de moutons) ait contaminé des bouquetins par un concours de circonstances. Puis les bouquetins ainsi infectés auraient re-contaminé *accidentellement* des bovins dans les années 2010. <sup>(42, 114, 146)</sup>

Dans la mesure où *Brucella melitensis* est très pathogène pour l'humain, il est important d'évaluer le risque d'une nouvelle transmission de la bactérie aux autres espèces du massif, et plus particulièrement aux ruminants domestiques. D'autant plus qu'en 2012, le massif du Bargy était fréquenté par 211 troupeaux réunissant plus de 12 000 animaux d'élevage. <sup>(42)</sup>

Cette appréciation du risque repose sur la probabilité d'émission d'une source infectieuse et sur la probabilité d'exposition des cheptels domestiques à cette source. <sup>(43)</sup> En théorie, le principal risque de contamination d'une vache semble être le contact avec les produits d'avortement d'une étagne. En pratique, cette exposition des cheptels domestiques à cette source infectieuse semble très rare. <sup>(42, 43, 146)</sup> D'ailleurs, le cheptel bovin contaminé en 2012 était gardé dans un parc clôturé, loin des zones de passage de bouquetins. <sup>(42)</sup> Une autre espèce animale (peut-être un chien ou un renard) a pu jouer le rôle de vecteur en transportant de la matière virulente. <sup>(42)</sup> À court et moyen terme (c'est-à-dire dans les 10 années à venir), les probabilités qu'une contamination domestique se reproduise sont « minimales » selon l'ANSES. Le risque pour l'humain est jugé inférieur au risque pour les cheptels domestiques. <sup>(43)</sup>

Le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique sont deux espèces phylogénétiquement proches qui, occasionnellement, peuvent se mélanger spatialement, et même s'accoupler (cf. XII.2.a). <sup>(42, 76)</sup> La « brucellose animale » pouvant se transmettre par voie vénérienne, les chèvres sont sans doute les animaux

les plus susceptibles de s'infecter.<sup>(42)</sup> De plus, contrairement à *B. abortus*, *B. melitensis* est habituellement détectée chez les caprins plutôt que chez les bovins.<sup>(1)</sup> Toutefois, comparé au nombre de bovins et d'ovins, le nombre de chèvres est relativement faible sur le massif (une centaine en période estivale), ce qui limite le risque.<sup>(42)</sup>

Les bouquetins pourraient transmettre la maladie à plusieurs espèces sauvages. Si certaines espèces sont surveillées (cerfs, chamois, chevreuils) ; d'autres le sont moins (sangliers et renards, par exemple).<sup>(42)</sup> Toutefois, à l'instar du bouquetin, ces espèces peu observées ne sont pas réputées être des réservoirs primaires habituels de *Brucella melitensis* biovar 3.<sup>(1)</sup>



**Photographie 3 :** Les bouquetins (au second plan) fréquentent parfois simultanément les mêmes lieux que d'autres espèces (ici, au premier plan, des chamois), d'où un risque de transmission inter-espèces.

Pour le moment, *Brucella* a été retrouvée chez une seule autre espèce sauvage dans le massif : le chamois (*Rupicapra rupicapra*), animal assimilé à une *impasse évolutive* pour la zoonose (2 cas identifiés entre 2012 et 2014).<sup>(43)</sup>

### VIII.3.c) Mesures de biosécurité

Afin de réduire le risque de transmission de *Brucella* des bouquetins aux autres espèces, l'ANSES recommande l'application de certaines mesures biosécuritaires.

Les « pierres à sel » mises à disposition des troupeaux doivent être retirées pour éviter les concentrations artificielles d'animaux. En outre, les troupeaux domestiques doivent être surveillés par des bergers et des chiens afin de limiter les interactions avec *Capra ibex*. Une dizaine de zones dites « de succession rapprochée entre bouquetins et cheptels domestiques » doivent faire l'objet d'une vigilance accrue. Les lieux de mise-bas des étagnes doivent, lorsqu'il s'agit de pâtures, n'être occupés qu'en seconde intention par les ruminants domestiques ; lorsqu'il s'agit de vires ou de barres rocheuses, être, si possible, rendus inaccessibles par des clôtures.<sup>(42, 43)</sup>

Outre la surveillance drastique des cheptels domestiques, un contrôle sérologique et clinique de nombreuses espèces sauvages doit être effectué sur le massif du Bargy et sur les massifs voisins (Aravis et Sous-Dine). De tels contrôles ont été réalisés en 2012 et 2013, confirmant le caractère *a priori* circonscrit de la zoonose, mais en 2014, les massifs alentours n'ont fait l'objet que d'une faible surveillance.<sup>(43, 146)</sup> Le fait que l'épizootie soit limitée à un massif s'expliquerait par le comportement sédentaire des bouquetins.<sup>(42, 79)</sup> Cependant, de rares déplacements de bouquetins entre le massif du Bargy et le massif des Aravis sont

parfois observés (notamment en période de rut) et font craindre une propagation de la brucellose.

#### **VIII.4) Gestion de l'épizootie : la vaccination, une nécessité ?**

##### **VIII.4.a) Surveillance sanitaire et abattage massif de 2013**

Dès 2012, un programme d'étude mené par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) est mis en place afin d'obtenir des données relatives à la zoonose.<sup>(42, 43)</sup> Les tests de dépistage sérologique effectués après télé-anesthésie révèlent que les bouquetins infectés ont très majoritairement plus de cinq ans.<sup>(42)</sup>

En octobre 2013, l'État ordonne et procède, par le biais d'agents de l'ONCFS, à l'abattage de bouquetins âgés de cinq ans et plus, tranche d'âge la plus touchée par l'épizootie. Durant les tirs, l'âge des animaux visés est approximativement évalué par la taille de leurs cornes.<sup>(79)</sup> Cette campagne élimine 224 individus (en 3 jours de tirs), sans opérer de distinction entre les animaux contaminés et les animaux non contaminés.<sup>(43)</sup>

L'ONCFS a récemment réévalué l'effectif initial de la population du Bargy à environ 570 bouquetins avant « l'abattage massif de 2013 » [IC à 95 % = 487-660], et à 310 bouquetins en 2014 [IC à 95 % = 275-352].<sup>(43)</sup> L'investigation épidémiologique porte également sur la structure de la population et sur sa dynamique reproductive. Il semble que l'effet abortif de la brucellose ait une influence sur la pyramide des âges des bouquetins, mais dans des proportions relatives et difficiles à évaluer.<sup>(43, 146)</sup> Généralement, chez les animaux, les femelles infectées n'avortent qu'une fois, mais cette donnée n'est pas confirmée pour les bouquetins.<sup>(70)</sup>

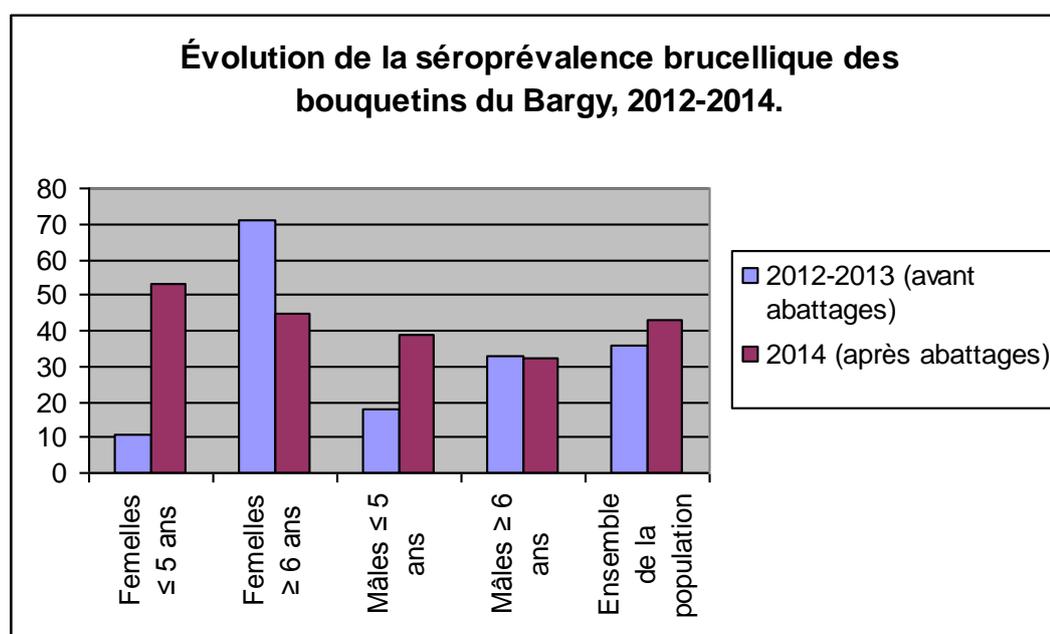
#### VIII.4.b) Conséquences épidémiologiques de l'abattage massif de 2013

Aucun contrôle sérologique ou bactériologique n'a été effectué sur les 224 bouquetins abattus en octobre 2013. Malgré cette carence, les campagnes de dépistage sérologique (menées hors de la période d'abattage massif) apportent les résultats suivants :

|                                  | <b>2012-2013<br/>(avant l'abattage massif)</b> | <b>2014<br/>(après l'abattage massif)</b> |
|----------------------------------|--|---|
| Femelles ≤ 5 ans                 | 2/18 = <b>11 %</b> [1-35]                      | 8/15 = <b>53 %</b> [27-79] ↑              |
| Femelles ≥ 6 ans                 | 17/24 = <b>71 %</b> [49-87]                    | 10/22 = <b>45 %</b> [24-68] ↓             |
| Mâles ≤ 5 ans                    | 3/17 = <b>18 %</b> [4-43]                      | 7/18 = <b>39 %</b> [17-64] ↑              |
| Mâles ≥ 6 ans                    | 6/18 = <b>33 %</b> [13-59]                     | 6/19 = <b>32 %</b> [13-57] =              |
| <b>Ensemble de la population</b> | 28/77 = <b>36 %</b> [26-48]                    | 32/75 = <b>43 %</b> [31-55] ↑             |

**Tableau 4 :** Séroprévalence brucellique des bouquetins du massif du Bargy sur la période 2012-2014.

- Résultats bruts sérologiques : nombre d'individus séropositifs / nombre d'individus testés = séroprévalence [Intervalle de confiance à 95 % de la séroprévalence].<sup>(43)</sup>



**Figure 10 :** Évolution de la séroprévalence brucellique observée chez les bouquetins du Bargy suite à l'abattage massif de 2013.<sup>(43)</sup>

Les abattages de masse ont diminué la séroprévalence observée chez les femelles âgées. Inversement, ils ont augmenté la séroprévalence observée chez les jeunes femelles, les jeunes mâles et dans l'ensemble de la population. <sup>(43)</sup>

Pour expliquer cette hausse de la séroprévalence observée chez les individus de moins de 6 ans, plusieurs hypothèses sont avancées. Hypothèse 1 : Les bouquetins vivent souvent en groupe ; suite aux abattages, ils se sont réorganisés pour former des groupes de taille équivalente ; ce qui a conduit à la mise en contact de groupes plus infectés avec d'autres groupes moins infectés, et donc accélérer la diffusion de la maladie. Hypothèse 2 : Les abattages ont modifié la structure de la population ; ce désordre a créé un stress chez de nombreux bouquetins ; stress qui a pu affaiblir leur système immunitaire et augmenter leur réceptivité à l'infection. Hypothèse 3 : Le fait d'abattre des mâles âgés a donné accès à la reproduction à de jeunes mâles jusqu'alors dominés, qui ont pu se contaminer par voie vénérienne. <sup>(43)</sup>

En somme, si les abattages indiscriminés ont *a priori* réduit le nombre d'animaux infectés, leur efficacité peut cependant être interrogée, particulièrement face à l'examen de l'évolution de la prévalence de la maladie. L'effet observé ne semble pas à la hauteur de l'effet attendu. <sup>(146)</sup> Les abattages de masse augmenteraient la probabilité de la survenue d'importants mouvements de bouquetins ; ce qui aurait pour conséquence, d'une part, de contribuer à entretenir l'infection dans le Bargy, d'autre part, d'accroître le risque de diffusion de la brucellose aux massifs voisins (Aravis et Sous-Dine). <sup>(43)</sup>

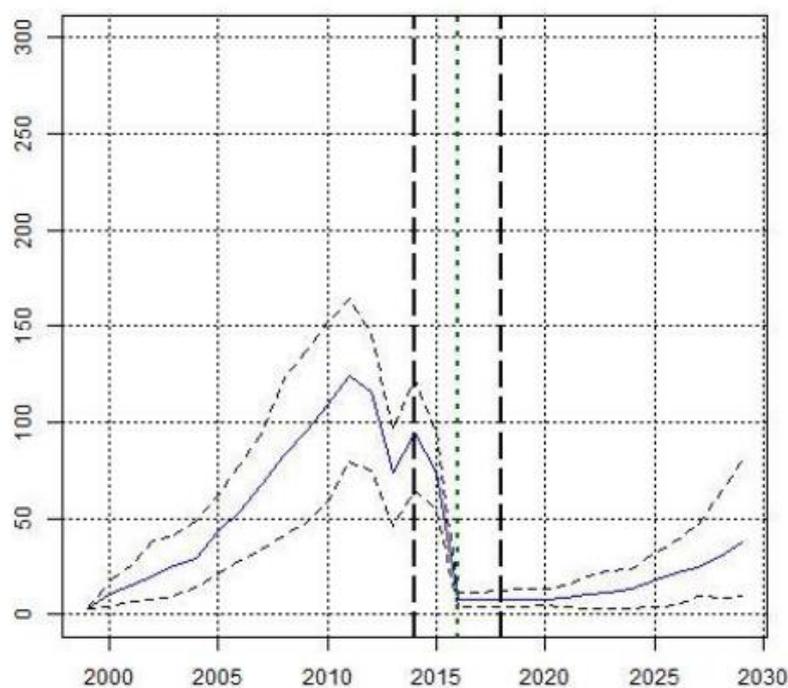
#### VIII.4.c) 2015 : les scénarios de gestion proposés par l'ANSES

En juillet 2015, s'appuyant sur l'expertise de scientifiques pluridisciplinaires, l'ANSES propose 4 scénarios de gestion de l'épizootie. <sup>(43)</sup>

|   |
|---|
| <b>Scénario 1 :</b> <i>Simple suivi</i> de la population de bouquetins sans abattage. <u>Vaccination en option.</u>   |
| <b>Scénario 2 :</b> <i>Suivi sérologique</i> accompagné de l' <i>euthanasie des bouquetins séropositifs</i> et du <i>marquage des séronégatifs</i> . <u>Vaccination en option.</u>  |
| <b>Scénario 3 :</b> <u>Première phase transitoire :</u> suivi sérologique accompagné de l' <i>euthanasie des bouquetins séropositifs</i> et du <i>marquage des séronégatifs</i> ( <u>vaccination en option</u> ). <u>Deuxième phase :</u> <i>abattage de masse</i> de tous les animaux non marqués sur une année. |
| <b>Scénario 4 :</b> <i>Abattage de tous les bouquetins du massif</i> sur une année.   |

L'ANSES estime qu'en pratique, la réalisation des scénarios 3 et 4 est « hautement improbable » sur la durée d'une année. Une tentative d'abattage total pourrait éliminer, au plus, 90 % des bouquetins, et ne pourrait pas conduire, selon les modélisations du groupe d'expertise, à une éradication de la brucellose. En effet, d'après 36 simulations, suite à un abattage massif de 90 % de la population, il resterait suffisamment d'individus excréteurs pour faire redémarrer l'épizootie. Selon les modélisations de l'ANSES, les seuls scénarios aboutissant à une extinction de la brucellose s'appuient sur un recours à la vaccination. <sup>(43)</sup>

Les experts de l'ANSES soulignent que l'analyse de tous ces scénarios est entachée de fortes incertitudes. Une gestion de l'épizootie sur plusieurs années (au moins 5 ans) impliquant la succession de différents scénarios semble raisonnable, voire inéluctable. <sup>(43)</sup>



**Figure 11 :** Prédications du nombre de bouquetins excréteurs de *Brucella* pour le scénario 4 (tentative d’abattage total). Source : ANSES. <sup>(43)</sup>

#### VIII.4.d) Des choix de gestion qui divisent

En 2013, le Préfet de la Haute-Savoie formule une demande d’abattage de l’ensemble des bouquetins du Bargy. <sup>(100)</sup> Compte tenu du statut de protection des bouquetins, la loi impose que cette demande fasse l’objet d’une consultation du Conseil National de Protection de la Nature (CNPN). L’avis du CNPN est obligatoire mais reste consultatif. <sup>(77, 78)</sup> En septembre 2013, le CNPN s’oppose à la demande d’abattage total, et propose un abattage ciblé portant sur les seuls bouquetins séropositifs. <sup>(100)</sup> Contre les recommandations du CNPN, 224 bouquetins appartenant à la tranche d’âge la plus infectée sont abattus en octobre 2013, sans contrôle sérologique préalable. <sup>(43)</sup>

En 2014, une campagne de dépistage est poursuivie grâce à un test sérologique rapide utilisable sur le terrain (Anigen Rapid GS Brucella Ab Test Kit, Laboratoire Bionote). Des bouquetins séropositifs sont tués ; des bouquetins séronégatifs sont marqués. <sup>(43, 145)</sup>

En 2015, afin d'accélérer le programme d'éradication de la brucellose, le Préfet de la Haute-Savoie demande au CNPN de se prononcer sur « la capture et le maintien d'un noyau d'animaux séronégatifs et l'abattage massif des autres bouquetins » (scénario 3 du rapport de l'ANSES). Le CNPN s'oppose à ce programme de gestion, lui préférant « la surveillance avec euthanasie progressive des seuls bouquetins séropositifs » complétée d'une vaccination des animaux séronégatifs (scénario 2 du rapport de l'ANSES).<sup>(43, 101)</sup>

Contre les recommandations du CNPN, un arrêté est publié, en septembre 2015, ordonnant la préservation d'un noyau de 75 bouquetins séronégatifs, et l'abattage des 200 à 250 autres bouquetins. La séroprévalence de la brucellose chez les bouquetins ciblés par ces abattages est estimée à environ 40 %. En octobre 2015, 70 bouquetins sont abattus, sans contrôle sérologique préalable. Puis, la campagne d'abattages est interrompue « par l'hiver ». <sup>(43, 102, 103)</sup> Avant la mise-bas de la fin du printemps 2016, il resterait donc entre 190 et 250 bouquetins sur le massif du Bargy.

Dans un futur proche, il est possible que :

- 1°) Des bouquetins « marqués séronégatifs » deviennent séropositifs ;
- 2°) *Brucella* soit transmise à d'autres espèces, notamment domestiques ; voire que de nouveaux réservoirs se forment.
- 3°) Les bouquetins du Bargy se dispersent dans les massifs adjacents ; cette dispersion pouvant être accélérée par les abattages.<sup>(42, 43)</sup>

Dans ce contexte plein d'incertitudes, la science pharmaceutique pourrait mettre à disposition des gestionnaires un outil décisif : le vaccin.

## IX. VACCINATION ET IMMUNOLOGIE : NOTIONS DE BASE

### IX.1) La vaccination : définition et objectifs

Selon Thomas Brock, « un vaccin est un agent pathogène inactivé ou affaibli, ou un produit inoffensif issu d'un agent pathogène, utilisé pour susciter le développement d'une immunité protectrice. »<sup>(28)</sup> L'Institut National de Prévention et d'Éducation pour la Santé (INPES) précise que « l'objectif de la vaccination est de permettre à l'individu de développer une protection active *spécifique vis-à-vis d'un agent infectieux*, avant toute exposition à cet agent infectieux, en utilisant les ressources naturelles de l'immunité ». <sup>(50)</sup> L'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) ajoute que la vaccination a « deux objectifs complémentaires : procurer un bénéfice individuel [...] et assurer un bénéfice collectif, de santé publique, en limitant la circulation et la transmission d'un agent pathogène. »<sup>(82)</sup>

La haute couverture vaccinale d'une population peut conduire à l'éradication d'un agent pathogène. À titre d'exemple, en France, l'obligation vaccinale a permis de faire passer le nombre annuel de cas déclarés de diphtérie de 45 541 en 1945 à 0 en 2013 ; et ce grâce à une couverture vaccinale proche de 95 % chez les enfants. <sup>(5, 81)</sup>

Pour les agents infectieux zoonotiques, l'éradication du pathogène est généralement plus difficile à obtenir, car elle nécessite, de surcroît, la maîtrise d'une ou plusieurs espèce(s) animale(s). <sup>(82)</sup> Toutefois, comme nous le verrons, une vaccination animale opportune peut parfois suffire à éliminer un agent infectieux zoonotique, et ainsi éviter un recours à la vaccination humaine (cf. X.1).

## **IX.2) La vaccination : rappels historiques**

La variolisation est sans doute l'ancêtre de la vaccination. Elle consiste en l'inoculation volontaire d'une souche de variole prélevée sur un sujet jugé faiblement malade. La variolisation a commencé à être pratiquée il y a vraisemblablement plusieurs siècles en Afrique et en Chine.<sup>(53, 54, 80)</sup> Cette variolisation pouvait immuniser le sujet, mais n'était pas sans risque. En 1760, les études de Daniel Bernoulli concluent que la variolisation permet d'accroître l'espérance de vie moyenne d'une population. Dès lors, plusieurs expérimentations sont menées, notamment par Edward Jenner en 1796, afin d'immuniser les humains en leur inoculant la variole des vaches, autrement nommée vaccine. De la vaccine naît le mot : « vaccination ».<sup>(47, 80)</sup>

C'est aux alentours des années 1880 que la vaccination est théorisée, essentiellement grâce aux travaux de Louis Pasteur. En 1881, le chercheur français commence par vacciner un troupeau de moutons contre « le charbon », zoonose causée par *Bacillus anthracis*. Puis, en 1885, Louis Pasteur vaccine un enfant contre la rage après culture du virus sur moelle de lapin. Cette vaccination fut effectuée en post-exposition, c'est-à-dire après la morsure du sujet par un chien enragé, mais avant l'apparition des symptômes humains.<sup>(47)</sup> Par la suite, de nombreux vaccins voient le jour dont, sans être exhaustif, les vaccins contre la fièvre typhoïde en 1896, la tuberculose en 1921, la coqueluche en 1923, la grippe en 1937, la poliomyélite en 1955, la rougeole en 1958, l'hépatite B en 1976, etc.<sup>(47, 81)</sup>

### IX.3) Immunité innée et immunité adaptative

**Le CMH.** Ayant un rôle central dans la réponse immunitaire, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) est « un ensemble de gènes codant plusieurs protéines exprimées à la surface des cellules et jouant un rôle important dans la présentation de l'antigène » aux cellules immunitaires.<sup>(28)</sup> Le CMH de classe I caractérise le soi, et est présent à la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme. Les cellules infectées (par un virus ou par une bactérie intracellulaire) sont capables d'exposer à leur surface (par leur CMH I) un antigène issu de l'agent infectieux ; ce qui permet aux cellules du système immunitaire de les identifier « comme infectées », puis d'enclencher leur lyse.<sup>(51, 80)</sup> Le CMH de classe II a également un rôle dans la présentation de l'antigène au système immunitaire, mais n'est présent qu'à la surface de certaines cellules (cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B).<sup>(28)</sup>

L'introduction dans l'organisme d'un antigène, qu'il soit vaccinal ou non, déclenche une réponse immunitaire axée sur deux grands mécanismes : *l'immunité innée* et *l'immunité adaptative*.

**L'immunité innée** permet de défendre *rapidement* l'organisme contre une agression extérieure. Contrairement à l'immunité adaptative, l'immunité innée n'est pas spécifique d'un antigène.<sup>(28, 80)</sup>

Les cellules de l'immunité innée sont les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules Natural Killer (NK). Elles reconnaissent, grâce à leur *Toll-Like Receptor* (TLR), des antigènes appartenant aux motifs moléculaires du groupe des *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMP) des micro-

organismes. Les lipopolysaccharides (LPS) des bactéries à Gram négatif, tels que le LPS des *Brucella*, font partie de ces PAMP. <sup>(28, 80)</sup>

Les cellules dendritiques capturent un élément étranger, le phagocytent, puis le détruisent par l'action de leurs phagolysosomes. L'agent infectieux est ainsi transformé en peptides, qui sont présentés au niveau de la surface des cellules dendritiques par le biais du CMH de classe II. Les peptides ainsi exposés vont pouvoir être « reconnus » par le système immunitaire adaptatif. Les cellules dendritiques sont, comme les macrophages, des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Elles produisent, par ailleurs, des cytokines, molécules modulant la réponse immunitaire. <sup>(28, 51, 80)</sup>

Également productrices de cytokines, les cellules Natural Killer (NK) détruisent les cellules infectées, sans garder la mémoire des antigènes qui les ont stimulées. L'action lytique des cellules NK semble notamment être déclenchée par une absence de reconnaissance du CMH I à la surface d'une cellule. <sup>(28, 51, 80)</sup>

**L'immunité adaptative est assurée par les lymphocytes, qui reconnaissent un antigène de façon spécifique.**

Toutes les cellules du système immunitaire proviennent des *cellules souches hématopoïétiques pluripotentes* de la moelle osseuse. Elles se différencient dans les tissus lymphoïdes de cette moelle osseuse pour les lymphocytes B (B comme *Bone marrow*) ou du thymus pour les lymphocytes T (T comme *Thymus*). <sup>(28, 80)</sup>

Les lymphocytes T n'identifient les peptides viraux ou bactériens que s'ils sont « couplés » au CMH. <sup>(80)</sup> Les lymphocytes T CD8+ (dits cytotoxiques) reconnaissent les peptides présentés par le CMH I, puis détruisent les cellules infectées. <sup>(51)</sup>

Les lymphocytes T CD4+ (dits auxiliaires ou helpers) reconnaissent les antigènes associés au CMH II. Une fois cette reconnaissance effectuée, ces lymphocytes auxiliaires émettent des interleukines (IL) stimulant la prolifération d'autres lymphocytes T CD4+ et de lymphocytes T CD8+. <sup>(34, 51)</sup>

Les lymphocytes B ont, à leur surface, des anticorps spécifiques identifiant un antigène en particulier. Ils internalisent l'antigène reconnu, puis l'exposent à leur surface en l'associant à leur CMH II. Les lymphocytes T CD4+ reconnaissent l'antigène exposé par les lymphocytes B, et favorisent la conversion des lymphocytes B (producteurs d'anticorps de type IgM) en plasmocytes. Les plasmocytes produisent des anticorps excrétés dans la circulation sanguine (immunoglobulines de type G : IgG) ou sécrétés au niveau des muqueuses (IgA). <sup>(28, 34, 51, 80)</sup> Une fois que ces anticorps circulants sont fixés à leur antigène spécifique, la bactérie ou la cellule infectée est détruite, notamment par les cellules NK. <sup>(80, 151)</sup>

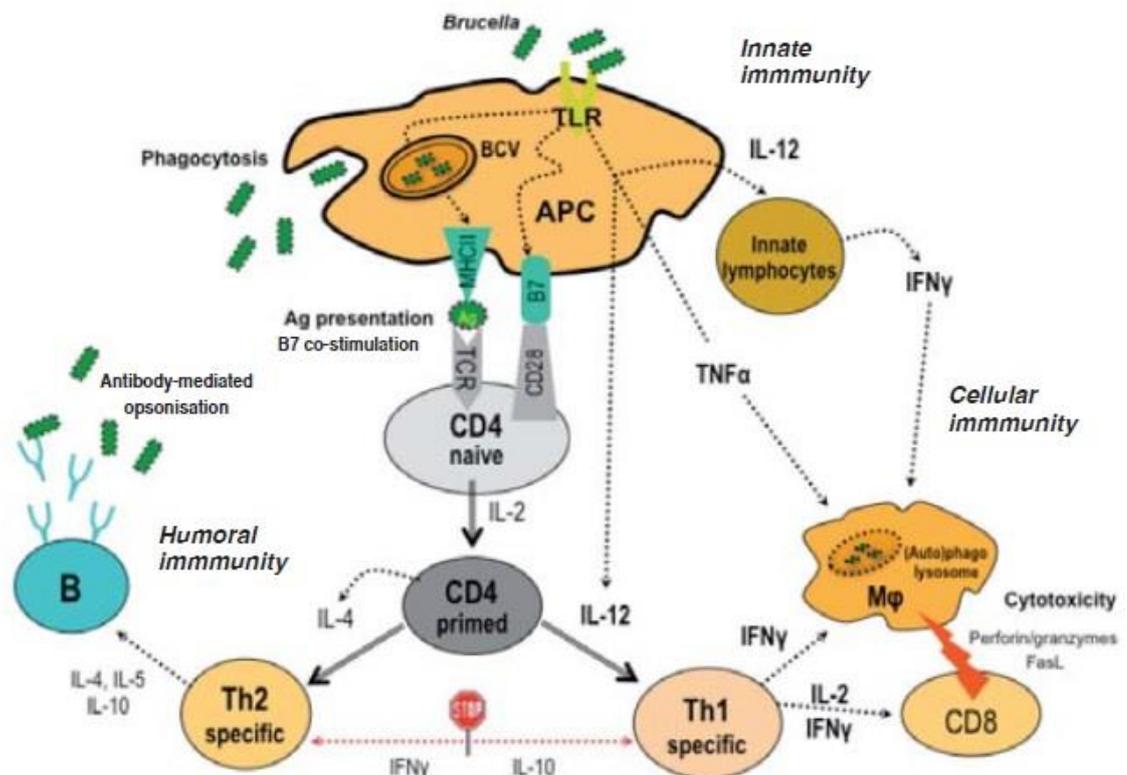
#### **IX.4) Caractéristiques de la réponse immunitaire vis-à-vis de *Brucella***

**L'immunité humorale** (qui repose sur les anticorps) est principalement efficace sur les agents extracellulaires tandis que **l'immunité à médiation cellulaire** est surtout active sur les agents à développement intracellulaire : virus, bacille de Koch (BK), *Brucella*... <sup>(151, 160)</sup>

Après reconnaissance par le TLR, les brucelles sont phagocytées par les CPA (macrophages et cellules dendritiques), qui exposent à leur surface des antigènes bactériens reconnus par des lymphocytes T CD4. Ces derniers sécrètent alors des cytokines stimulant notamment la prolifération de lymphocytes T helpers 1 (Th1). Les Th1 produisent de l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ), qui favorise la

destruction des brucelles intracellulaires par les macrophages et les lymphocytes cytotoxiques T CD8+. <sup>(160)</sup>

Les lymphocytes T helpers 2 (Th2) sécrètent des interleukines (IL-4, IL-5, IL-10) stimulant la prolifération des lymphocytes B et la production d'anticorps. La réponse Th2 inhibe la réponse Th1, et *vice versa*. La réponse de type Th1 est généralement insuffisante chez les patients atteints de brucellose chronique ; chez qui, les brucelles peuvent se répliquer et persister durablement dans les macrophages. <sup>(1, 56, 160)</sup>



**Légende :**

Ag : Antigène  
 APC : Cellule Présentatrice d'Antigène  
 BCV : Brucella containing-vacuole  
 IFN $\gamma$  : Interféron gamma  
 IL : Interleukine  
 MHC II : CMH de classe II

TCR : T-Cell Receptor  
 Th1 : Lymphocyte T helper 1  
 Th2 : Lymphocyte T helper 2  
 TLR : Toll-Like Receptor  
 TNF $\alpha$  : Tumour Necrosis Factor  $\alpha$

**Figure 12 :** Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre *Brucella*. <sup>(160)</sup>

### **IX.5) La mémoire immunitaire : fondement de la vaccination**

Après une première rencontre avec un antigène, la réintroduction de ce même antigène suscite une réponse importante et rapide du système immunitaire grâce aux lymphocytes à mémoire.

Lors d'un premier contact avec un antigène A, les lymphocytes T anti-A entrent en expansion clonale. Après élimination du stimulus antigénique, environ 95 % des lymphocytes T anti-A meurent par apoptose ; on parle alors de contraction clonale. Cette contraction permet de rééquilibrer le compartiment lymphocytaire. <sup>(148)</sup>

Stimulés par des cytokines (IL-7 et IL-15), environ 5 % des lymphocytes T anti-A n'entrent pas en apoptose, et deviennent des **lymphocytes T mémoire**. Ces cellules T mémoire ont des caractéristiques particulières (une forte affinité pour l'antigène A, un seuil de déclenchement d'activation très bas, une forte sensibilité aux différentes cytokines et un pouvoir de lyse quasi immédiat). Ces lymphocytes T mémoire permettent au système immunitaire de réagir plus rapidement et plus efficacement à la deuxième rencontre d'un antigène qu'à sa première rencontre. <sup>(148)</sup>

Les lymphocytes T mémoire ne vivent que quelques dizaines de jours, mais leur duplication continue permet à l'organisme de conserver une mémoire immunitaire sur plus d'une dizaine d'années. <sup>(148)</sup>

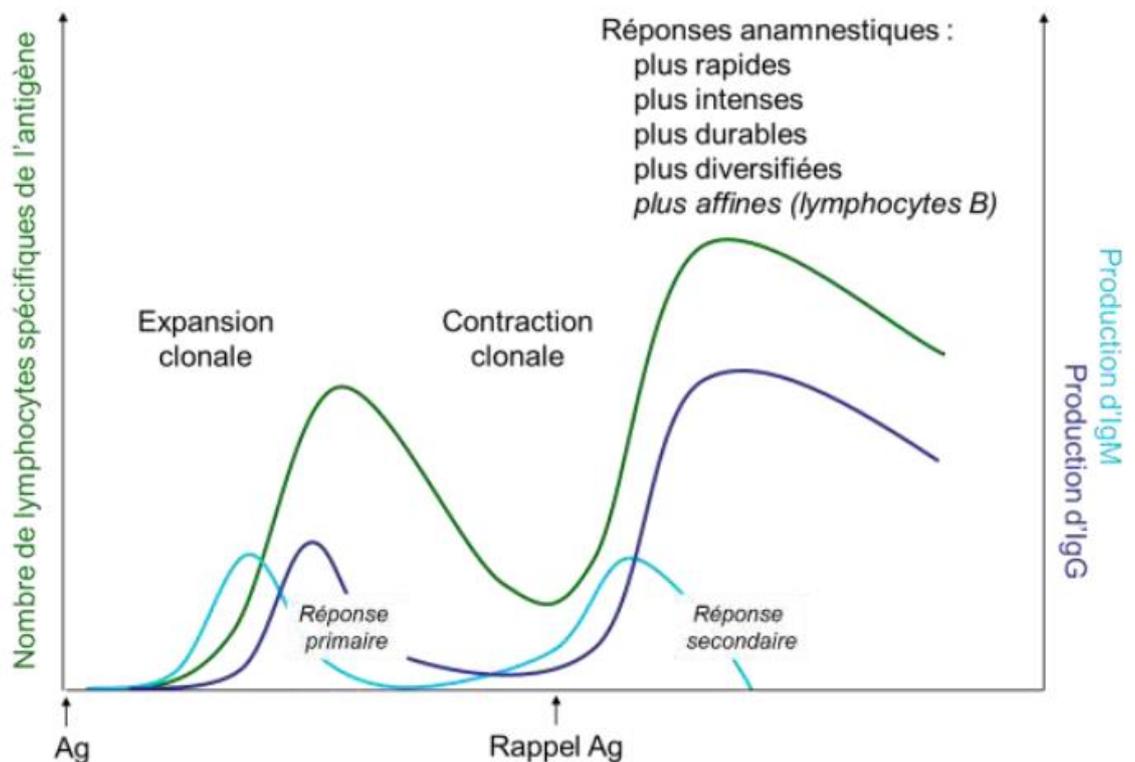
De même, certains lymphocytes B vont se différencier en **lymphocytes B mémoire**. Ces derniers ont la faculté de répondre très rapidement et très efficacement à un antigène spécifique, notamment en se transformant en plasmocytes, sécréteurs d'anticorps. <sup>(28, 149)</sup>

Grâce à ces cellules, la mémoire immunologique persiste longtemps chez l'homme, même lorsque les anticorps ne sont plus détectables par les tests usuels de

dépistage. <sup>(28, 48, 148)</sup> C'est pour cette raison que de nombreuses maladies infectieuses ne surviennent qu'une fois dans la vie d'un individu. <sup>(148)</sup>

La vaccination consiste à présenter à l'organisme un antigène, caractéristique d'un agent pathogène, afin d'activer la mémoire du système immunitaire. Après une vaccination, une contamination naturelle par l'agent pathogène réactive cette mémoire, et permet à l'individu de résister de façon spécifique et efficace à une infection bactérienne ou virale.

### IX.6) Réponse sérologique classique à la vaccination



**Figure 13 :** Réponse immunologique classique à un antigène : évolution du nombre de lymphocytes spécifiques et de la production d'immunoglobulines. Source : ASSIM. <sup>(148)</sup>

Après une première administration vaccinale, une période de latence est généralement observée. Elle dure de quelques jours à 2 semaines ; elle varie selon

les vaccins utilisés et selon l'état immunitaire du sujet. Puis la réponse adaptative débute : des anticorps commencent à se former, d'abord des IgM (produits par les lymphocytes B), puis des IgG (produits par les plasmocytes). Passant par une phase exponentielle, la croissance des anticorps peut durer de 4 jours à 4 semaines. Après avoir atteint un pic, le taux d'anticorps s'abaisse rapidement, puis plus lentement. Les IgM décroissent plus vite que les IgG. <sup>(48, 149)</sup>

Suite au respect d'un délai convenable, une seconde administration vaccinale déclenche une réponse-mémoire. Des anticorps spécifiques de type IgG se forment très rapidement et en quantité plus importante que lors de la réponse primaire. Après une phase de croissance exponentielle, leur taux maximum est obtenu en quelques jours. La phase de décroissance des anticorps est plus prolongée que lors de la réaction primaire. <sup>(28, 48, 148)</sup>

### **IX.7) Les différents types de vaccins**

**L'immunogénicité** est la propriété de déclencher une réaction immunitaire. **La virulence** est la capacité d'induire une maladie infectieuse. <sup>(28)</sup> Un vaccin idéal doit avoir un fort pouvoir immunogène et une virulence nulle, mais en pratique, tous les vaccins ne sont pas idéaux...

Les **vaccins vivants atténués** sont généralement très immunogènes. Ils sont fabriqués à partir de souches vivantes, mais de moindre virulence. Le pouvoir pathogène des bactéries ou des virus est atténué grâce à des passages successifs sur des milieux de culture. Ces vaccins induisent une immunité mimant l'infection par l'agent pathogène « sauvage » en provoquant une réponse à la fois humorale (par les anticorps circulants) et cellulaire (par les lymphocytes T CD4+ et T CD8+). L'inconvénient majeur de cette famille de vaccins est leur virulence parfois trop élevée. Il existe des vaccins vivants atténués *de type viral* : poliomyélite, rougeole,

oreille, rubéole... Et des vaccins vivants *de type bactérien* comme les vaccins (à usage vétérinaire) contre la brucellose ou le vaccin Bilié de Calmette et Guérin (BCG), que nous évoquerons dans la suite de cette thèse (cf. X. 2). <sup>(27, 47, 80, 81, 83, 151)</sup>

Les **vaccins inactivés** sont fabriqués à partir d'agents infectieux inactivés par un procédé physique (comme la chaleur) ou chimique. Ils sont souvent très bien tolérés. Ils induisent principalement une réponse immunitaire de type humorale (avec production d'anticorps circulants). Lors de la réponse vaccinale, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> stimulent les lymphocytes B, producteurs d'anticorps. Les vaccins inactivés peuvent être associés à des adjuvants (notamment des sels d'aluminium) afin d'accroître leur efficacité. Les vaccins contre la coqueluche et la leptospirose sont des vaccins *bactériens* inactivés. Les vaccins contre la grippe, la rage et l'hépatite A sont des vaccins *viraux* inactivés. <sup>(47, 81, 83, 151)</sup>

Les **vaccins à anatoxines** sont fabriqués à partir de protéines responsables d'une activité pathogène : les toxines. Les anatoxines sont des toxines inactivées, « ayant perdu » leur pouvoir pathogène, tout en conservant leur immunogénicité. Les vaccins contre le tétanos et la diphtérie sont des vaccins à anatoxines (produites en traitant les toxines par le formaldéhyde) ; ils sont très bien tolérés. La réponse à ce type de vaccin est essentiellement humorale. <sup>(28, 29, 47, 81, 83, 151)</sup>

Les **vaccins à sous-unités** sont fabriqués à partir d'une fraction immunogène de l'agent pathogène. Cette fraction peut être protéique ou glycosidique. Certains antigènes vaccinaux sont couplés à des polysaccharides, afin d'augmenter leur immunogénicité. C'est le cas, par exemple, des vaccins contre les pneumocoques et les méningocoques. <sup>(47, 83, 151)</sup>

## **X. VACCINATION DE LA FAUNE SAUVAGE CONTRE DES ZONOSSES : EXEMPLES DE LA RAGE ET DE LA TUBERCULOSE**

### **X.1) Vaccination des renards contre la rage : une réussite**

La rage est une zoonose virale mortelle pouvant se transmettre de l'animal à l'homme. En 1885, Louis Pasteur a expérimenté un vaccin contre la rage chez l'humain, puis la vaccination a été étendue aux animaux. Les chiens, réservoir du virus, ont commencé à être vaccinés par voie injectable. Ce mode d'administration permet de contrôler efficacement la zoonose chez les animaux domestiques, mais reste difficilement applicable aux chiens errants et aux mammifères sauvages. <sup>(47, 88, 89)</sup>

Dans la faune sauvage, le renard roux (*Vulpes vulpes*) est couramment considéré comme étant la seule espèce animale capable d'assurer la pérennité de l'infection en Europe. Moins sensibles à la maladie, les autres espèces peuvent aussi transmettre la rage, mais de manière plus sporadique. <sup>(89)</sup>

Dans un premier temps, la meilleure façon de lutter contre la rage sylvatique a semblé être l'élimination du réservoir primaire : en l'occurrence l'abattage des populations de renards. En pratique, une telle mesure s'avère peu efficace et dangereuse pour les équilibres écologiques (moins de renards = plus de rongeurs). <sup>(89, 150)</sup>

Puis, des chercheurs américains démontrent l'efficacité d'une vaccination orale *vivante atténuée* sur des renards maintenus en captivité. S'appuyant sur ces études, les Suisses débute, en 1978, une campagne de vaccination par voie orale des renards afin d'éradiquer la rage de leur territoire. Pour cela, des têtes de poulets contenant la souche vaccinale sont manuellement distribuées à ces animaux dans

une vallée isolée entre deux massifs montagneux. Cette modalité géographique de distribution permet d'éviter une dissémination incontrôlée du vaccin. <sup>(88, 89)</sup>

La distribution manuelle de têtes de poulets est ensuite remplacée par le largage aérien de « croquettes vaccinales ». Ces « croquettes » sont attirantes pour le renard, et contiennent en leur cœur une capsule (renfermant la souche vaccinale) que l'animal crève en croquant l'appât. Cette pratique est étendue à l'ensemble du territoire suisse, à l'Allemagne et à la France. La proportion de renards ainsi vaccinés est évaluée grâce à la recherche, dans les os de renards, de tétracycline (marqueur placé dans les appâts). Il en ressort que, dans les zones traitées, 70 à 80 % des renards consomment ces appâts. Une telle couverture vaccinale est généralement considérée comme pouvant être suffisante pour éradiquer un agent pathogène. <sup>(46, 82, 88, 89)</sup>

Dans les années 1980, certaines souches utilisées présentent un risque de virulence pour les espèces non cibles susceptibles de consommer les appâts, mais les animaux développant « une rage iatrogène » sont généralement des impasses évolutives pour le virus. Puis de nouveaux vaccins considérés comme non pathogènes pour les espèces non cibles sont mis au point. <sup>(88, 89)</sup>

En France, cette vaccination antirabique de la faune sauvage fait passer le nombre de cas de rage observés chez les animaux de 4212 en 1989 à 40 en 1995. <sup>(88)</sup> En 2001, la France est reconnue officiellement indemne de rage chez les animaux terrestres non volants (cf. III.3). <sup>(51, 90)</sup> La France reste toutefois exposée aux cas de rage importés des pays qui n'en sont pas indemnes. <sup>(90)</sup>

En somme, la vaccination de la faune sauvage est le meilleur moyen de lutter contre la rage humaine.

## **X.2) Vaccination contre la tuberculose à *Mycobacterium bovis***

### **X.2.a) *M. bovis* et *Brucella* : analogies zoonotiques**

Avant d'aborder la vaccination antituberculeuse de la faune sauvage, il est utile de comprendre le cycle épidémiologique de la zoonose tuberculeuse, et de le comparer à celui de la brucellose.

La tuberculose bovine est une zoonose causée par *Mycobacterium bovis*. Comme la brucellose, elle peut se transmettre à l'homme et à de nombreux mammifères : ovins, caprins, équidés, camélidés, porcs, sangliers, cerfs, blaireaux, chiens, renards, lièvres, wapitis, lions, lynx, *et cætera*. Les modes de contamination habituels sont l'inhalation de gouttelettes infectées expulsées lors de la toux et l'ingestion de lait cru. <sup>(92)</sup>

La tuberculose à *M. bovis* est une orthozoonose ayant un cycle semblable à la brucellose à *Brucella abortus*. En effet, dans les deux cas, les bovins domestiques constituent généralement le réservoir primaire de l'infection, à partir duquel d'autres espèces sont susceptibles de se contaminer. <sup>(1, 92)</sup> La tuberculose bovine est principalement répandue en Afrique, en Asie et en Amérique. Dans certains pays, jusqu'à 10 % des cas de tuberculose humaine sont d'origine bovine. <sup>(93)</sup>

**Prophylaxie.** Comme pour la brucellose, la pasteurisation est suffisante pour détruire la bactérie, et empêche la propagation de la maladie par le lait. <sup>(92, 97)</sup> L'efficacité de la vaccination antituberculeuse des troupeaux est modérée, et perturbe le dépistage sérologique. De nouveaux vaccins restent à l'étude. <sup>(92)</sup> En pratique, la prévention de la tuberculose bovine « domestique » repose surtout sur le dépistage et l'abattage des animaux contaminés. À l'instar de la brucellose,

l'efficacité de ce suivi sanitaire permet à la France d'être reconnue officiellement indemne de tuberculose bovine par l'UE en 2001.

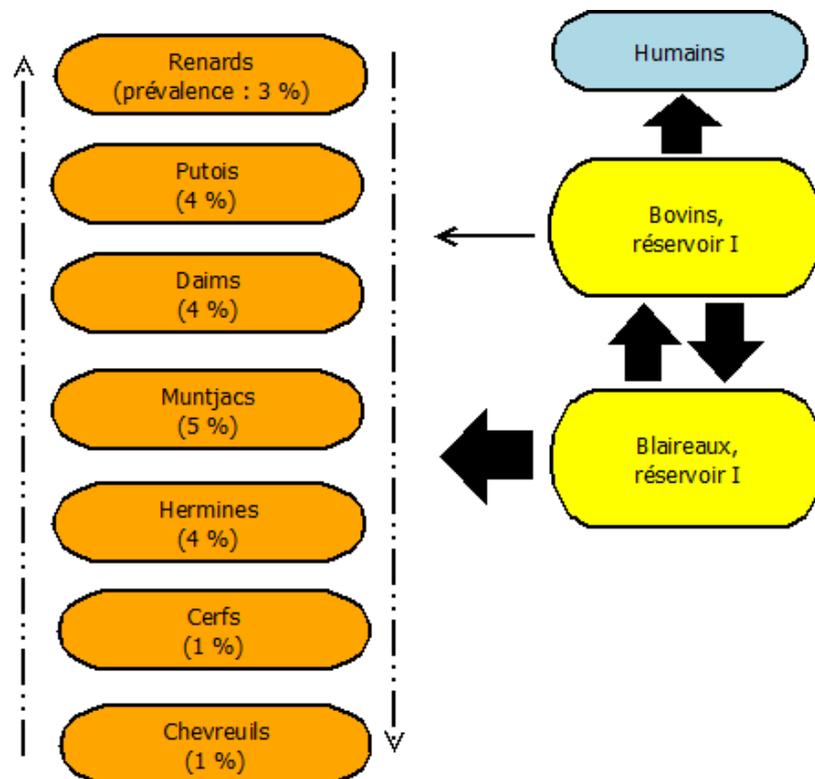
**Cependant**, c'est précisément en 2001 que le premier cas de tuberculose à *M. bovis* de la faune sauvage française est découvert (chez des cerfs dans la forêt de Brotonne en Seine-Maritime) ; s'en suit une résurgence de la tuberculose dans les cheptels bovins des alentours. Puis, sont détectés des cas de tuberculose chez des sangliers et des blaireaux. La persistance de foyers sauvages induit un risque de re-contamination des animaux domestiques, et menace donc le statut *indemne de tuberculose* des cheptels bovins. D'ailleurs, environ cent foyers de tuberculose à *M. bovis* sont déclarés chaque année dans les élevages français. <sup>(95, 96, 97)</sup>

La tuberculose bovine est une maladie d'évolution lente. Les animaux atteints peuvent transmettre *M. bovis* à de nombreux autres animaux avant de commencer à présenter des signes cliniques. Sur certains territoires, l'infection se pérennise dans des populations d'animaux sauvages, même en l'absence de foyers bovins ; ces espèces sauvages deviennent donc des réservoirs primaires de la maladie. C'est le cas du cerf dans la forêt de Brotonne en France, du blaireau au Sud-Ouest de l'Angleterre, du sanglier en Espagne, du wapiti et du bison au Canada ou encore des marsupiaux en Nouvelle-Zélande. Outre les bovins, les ongulés sauvages sont globalement les espèces les plus susceptibles de devenir des réservoirs primaires de tuberculose.

Une espèce comme le sanglier peut être réservoir primaire sur un territoire (prévalence de 52 % dans le Parc National de Doñana en Espagne), réservoir secondaire sur un autre territoire (forêt de Brotonne en France) ou encore cul-de-sac épidémiologique sur un troisième territoire (Italie). Ces variations du rôle épidémiologique du sanglier semblent dépendre de facteurs écologiques,

topographiques et démographiques (cf. III.3). Les fortes densités d'animaux sauvages augmentent les risques de persistance de la tuberculose au sein d'une espèce. Praticqué par les chasseurs, le dépôt de nourriture destiné à la faune sauvage (agrainage) provoque des concentrations artificielles de plusieurs espèces animales, et constitue un facteur d'émergence et de persistance de la tuberculose à *M. bovis*.<sup>(92, 93, 95, 97)</sup>

Comme c'est le cas au Sud-Ouest de l'Angleterre où 9,2 % des cheptels bovins étaient infectés en 2011, la tuberculose à *M. bovis* est une zoonose difficile à maîtriser, car pouvant circuler dans un « système multi-hôtes ». <sup>(10, 63, 95)</sup> Chez le blaireau (*Meles meles*), ce sont l'urine et les excréments (plutôt que les expectorations) qui sont riches en bacilles tuberculeux, et donc contaminants pour de nombreuses autres espèces : renards, daims, hermines, putois, chevreuils...<sup>(10)</sup>



**Figure 14 :** Schéma simplifié du cycle de la tuberculose à *M. bovis* au Sud-Ouest de l'Angleterre, d'après Delahay *et al.*, 2007. Prévalence entre parenthèses.<sup>(63)</sup>

Pour réduire l'épizootie de tuberculose bovine en Angleterre, l'abattage des blaireaux, considérés comme réservoir primaire, a été mis en œuvre dès les années 1980, mais n'a pas permis l'éradication de la maladie. Les abattages ont provoqué une perturbation de la structure des groupes de blaireaux, et une augmentation des migrations d'animaux à l'origine d'une dispersion de l'infection. Ainsi, l'incidence de la tuberculose à *M. bovis* a diminué à l'intérieur des zones d'abattages, mais a augmenté en marge des zones d'abattages... À l'instar de la lutte contre la rage des renards en Europe et de la lutte contre la brucellose des bouquetins du Bargy, les abattages massifs ont montré, une fois de plus, une efficacité limitée. <sup>(43, 88, 89)</sup> Face à ce constat, le gouvernement britannique a investi l'équivalent de plusieurs dizaines de millions d'euros dans le développement de vaccins antituberculeux de type BCG destinés aux blaireaux et aux bovins. <sup>(95)</sup>

### **X.2.b) Le BCG, un vaccin humain**

Le BCG ou vaccin Bilié de Calmette et Guérin est un vaccin vivant atténué fabriqué à partir d'une souche mutée de *Mycobacterium bovis*. Cette souche a été obtenue en 1921 grâce aux travaux d'Albert Calmette et de Camille Guérin après 13 années de repiquage sur un milieu à base de pomme de terre. Le bacille ainsi obtenu est immunogène, tout en étant moins virulent que *Mycobacterium tuberculosis* (aussi nommé Bacille de Koch), agent infectieux à l'origine de la tuberculose humaine. Utilisé pour vacciner l'homme, le BCG a une bonne efficacité pour prévenir les formes méningées et miliaires de tuberculose, en particulier chez l'enfant. Cependant, le BCG prévient mal l'apparition des tuberculoses pulmonaires (« les plus contagieuses »), et ne semble pas avoir un effet décisif dans la lutte contre la tuberculose humaine. Le BCG peut induire des effets indésirables :

fréquemment des adénopathies ; très rarement des bécégites disséminées mortelles... Dans ce contexte, depuis bientôt 10 ans, la France a renoncé au caractère obligatoire de la vaccination antituberculeuse. <sup>(29, 57, 81, 98)</sup>

### **X.2.c) Expérimentations du BCG sur la faune sauvage**

Les études vaccinales menées en Angleterre sont longues et coûteuses à réaliser, car comme pour *Brucella* en France, elles doivent être menées en laboratoire de catégorie 3 (cf. V.2). Les blaireaux inclus dans ces expériences sont eux-mêmes placés dans des salles de biosécurité. <sup>(11, 12, 14, 15, 95)</sup> Les expérimentations anglaises démontrent qu'une inoculation intra-bronchique de 1000 à 10 000 colonies de mycobactéries n'empêche pas l'infection des animaux. Cependant, une telle inoculation limite et retarde le développement des lésions, et réduit l'excrétion de *M. bovis*. <sup>(95)</sup>

Suite à ces études, un vaccin de type BCG a été utilisé sur le terrain sur plusieurs centaines de blaireaux. Il en est ressorti que le vaccin réduit le risque de survenue d'une tuberculose symptomatique chez ces mammifères. Depuis 2010, un vaccin intramusculaire dispose donc d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour le blaireau, et est commercialisé en Angleterre. S'ils le souhaitent, les éleveurs peuvent faire intervenir des vétérinaires pour capturer et vacciner les blaireaux des alentours ; ce qui limite la circulation du pathogène dans les populations de blaireaux, et donc le risque de transmission de *M. bovis* de la faune sauvage à la faune domestique (et inversement). Des vaccins oraux sont en cours d'expérimentation ; ce qui pourrait conduire, comme pour la rage du renard, à une dispersion d'appâts vaccinaux. Étant donné que les abattages ne permettent pas de

contrôler cette zoonose, la vaccination des blaireaux semble être le meilleur moyen d'éliminer la tuberculose à *M. bovis* en Angleterre. <sup>(95, 97)</sup>

D'abord destiné à l'humain, le BCG (ou une de ces variantes) pourrait être plus efficace chez le blaireau. Cela ne serait pas étonnant puisque le BCG est fabriqué à partir de *Mycobacterium bovis*, alors que la souche qui contamine l'homme est très majoritairement *Mycobacterium tuberculosis*. Toutefois, malgré ces résultats encourageants, le vaccin antituberculeux conserve un pouvoir pathogène résiduel sur le blaireau, et assure une protection qui n'est que relative.

La création d'un vaccin antituberculeux hybride à partir d'un mélange de protéines immunogènes pourrait réduire ces inconvénients vaccinaux. <sup>(98)</sup> Des vaccins antituberculeux de type BCG sont également à l'étude pour le sanglier en Espagne (par voie orale), le cerf aux États-Unis, le buffle en Afrique du Sud et les marsupiaux en Nouvelle-Zélande. <sup>(95, 97)</sup>

#### **X.2.d) Lutte contre *Mycobacterium* et *Brucella* : analogies pharmacologiques**

Comme *Brucella*, *Mycobacterium tuberculosis* et *M. bovis* sont des bactéries intracellulaires facultatives pouvant persister durablement dans les macrophages. De ce fait, les traitements humains contre la tuberculose et la brucellose reposent sur la prise, durant une longue période, d'antibiotiques à bonne diffusion intracellulaire comme la rifampicine. <sup>(2, 22, 98)</sup>

Ces bactéries sont des agents biologiques pathogènes du groupe 3. À ce titre, leur manipulation est strictement réglementée, si bien qu'une expérimentation vaccinale portant sur ces souches est généralement longue et coûteuse. <sup>(11, 12)</sup>

Les vaccins (commercialisés) contre la brucellose et la tuberculose sont de même nature, à savoir des souches bactériennes vivantes atténuées. Ils doivent être

actifs contre des bactéries à développement intracellulaire. Leur utilisation se heurte à trois mêmes obstacles : 1°) une efficacité relative, 2°) une virulence résiduelle, 3°) une perturbation du dépistage sérologique post-vaccinal.

Cependant, comme nous allons le voir, dans le cas de la vaccination anti-brucellique, ces inconvénients peuvent être atténués par un choix judicieux de la population ciblée et des modalités vaccinales (souche, dose et voie d'administration).

## XI. VACCINATION ANTI-BRUCELLIQUE DE LA FAUNE : BASES ET HISTORIQUE

### XI.1) Les vaccins anti-brucelliques destinés aux animaux

Aucun vaccin humain n'étant actuellement commercialisé (cf. V.10), la vaccination de l'animal peut avoir un rôle majeur dans la prophylaxie humaine de la brucellose. En effet, elle peut conduire, à terme, à la disparition de *Brucella* d'un réservoir animal, et donc empêcher sa transmission à l'homme. La vaccination des élevages a d'ailleurs largement contribué à éradiquer la brucellose dans de nombreux pays (cf. VII.2). Bien que non directement transposables à la faune sauvage, les connaissances acquises en matière de vaccination domestique peuvent fournir des renseignements utiles avant d'entreprendre des expérimentations sur d'autres espèces.

#### XI.1.a) Les souches vaccinales les plus utilisées

Selon l'Office International des Épizooties (OIE), les vaccins anti-brucelliques les plus efficaces sont fabriqués à partir de souches vivantes atténuées.<sup>(27, 43, 132)</sup>

|   |
|---|
| <b>Les souches vaccinales recommandées par l'OIE sont :</b>   |
| <b>Pour la brucellose bovine :</b> la souche <b><u>B19</u></b> (aussi nommée S19) et la souche <b><u>RB51</u></b> de <i>Brucella abortus</i> biovar 1. <sup>(46, 132)</sup> |
| <b>Pour la brucellose ovine ou caprine :</b> la souche <b><u>Rev. 1</u></b> de <i>Brucella melitensis</i> biovar 1. <sup>(27, 46)</sup>                                     |

D'autres souches vaccinales existent, mais ne sont pas utilisées en Europe. Par exemple, la souche S2 de *Brucella suis* est administrée en Chine aux bovins, ovins, caprins et porcins. Elle assurerait une protection contre *Brucella melitensis*, mais son efficacité est inférieure à Rev. 1. Des vaccins anti-brucelliques inactivés ont déjà été testés, mais ne sont actuellement pas préconisés. <sup>(43, 46)</sup>

Dans le cadre de « l'affaire du Bargy », nous reviendrons en détail sur le vaccin Rev. 1 (cf. XII.2).

### **XI.1.b) Innocuité des vaccins anti-brucelliques**

Les souches recommandées par l'OIE sont bien connues en Europe. Elles ont été (et sont parfois encore) massivement utilisées en Espagne, en France, en Italie et au Portugal. Toutes ces souches « vivantes atténuées » possèdent une virulence résiduelle.

**Chez l'animal**, ce pouvoir pathogène est variable, d'une part, selon l'espèce et l'âge des individus, d'autre part, selon la dose et la voie d'administration du vaccin. L'inoculation d'une souche vaccinale peut être à l'origine d'avortement. <sup>(27, 46, 127, 132)</sup> Chez les ruminants domestiques, les effets délétères de ces souches sont fortement atténués lorsque la vaccination est effectuée sur des animaux impubères, d'où l'intérêt de cibler les jeunes animaux. <sup>(46)</sup> Ainsi, B19 est classiquement injecté à des bovins âgés de 3 à 6 mois ; tandis que RB51 est administré, aux États-Unis, aux veaux de 4 à 12 mois. <sup>(132)</sup> Moins répandue, la vaccination des animaux plus âgés se pratique généralement à dose réduite, afin de diminuer le risque de survenue d'effets indésirables. Ainsi, aux USA, RB51 est administré à la dose de  $1-3 \times 10^{10}$  Unités Formant Colonie (UFC) aux veaux de moins de 1 an, et à seulement  $1 \times 10^9$

UFC aux bovins de plus de 1 an. Cette dose réduite diminue significativement le taux d'avortement des sujets vaccinés. <sup>(132)</sup>

**Chez l'homme, la pathogénicité de ces vaccins est très élevée.** Une simple projection de la souche vaccinale (sur les lèvres ou dans l'œil) peut suffire à contaminer le manipulateur. L'injection aux animaux nécessite donc l'utilisation d'équipements de protection spéciaux. <sup>(46, 83, 91)</sup> En cas d'accident de manipulation, la possibilité d'induction d'une brucellose systémique chez l'humain est bien documentée pour le vaccin B19 ; incertaine pour la souche RB51. (Remarque : Si un traitement post-exposition est instauré, noter que RB51 est très résistante à la rifampicine.) <sup>(132)</sup>

### **XI.1.c) Efficacité chez l'animal des vaccins anti-brucelliques**

Les souches B19 et Rev. 1 assurent une très bonne immunisation (meilleure que celle conférée par RB51). Elles ont grandement contribué à faire disparaître la brucellose dans de nombreux pays, dont la France. <sup>(27, 46, 132)</sup>

L'efficacité des vaccins anti-brucelliques n'est toutefois pas absolue. En effet, un animal vacciné peut *parfois* s'infecter par une souche sauvage, voire développer des symptômes. Même asymptomatique, un animal « vacciné puis contaminé par une souche sauvage » peut potentiellement devenir excréteur de la bactérie, et donc source d'infection. La survenue de tous ces événements reste significativement moins probable chez l'animal vacciné que chez l'animal non vacciné. <sup>(46, 161)</sup>

Une souche vaccinale peut être très efficace sur une espèce animale, et peu efficace sur d'autres. C'est le cas de B19 qui est globalement plus efficace sur les bovins que sur les ovins et les caprins. En outre, un vaccin peut être efficace contre

plusieurs espèces de *Brucella*. Ainsi, des expérimentations menées sur des souris suggèrent que certaines souches vaccinales atténuées de *B. melitensis* assurent une protection contre *B. abortus*.<sup>(27, 46)</sup>

L'éradication d'un agent pathogène ne devient généralement possible que lorsqu'au moins 80 % de la population cible est vaccinée.<sup>(46, 82)</sup> Par ailleurs, la protection conférée par les vaccins a une durée variable selon les espèces animales et les souches bactériennes. B19 et RB51 conféreraient une longue immunité aux bovins, rendant une revaccination *a priori* peu utile.<sup>(27, 46, 132)</sup>

#### **XI.1.d) Interférences avec le dépistage sérologique**

Comme « les brucelles sauvages », les souches vaccinales Rev. 1 et B19 induisent la production d'anticorps dirigés contre le LPS de *Brucella* ; ce qui rend difficile la différenciation « sérologique » des animaux vaccinés et des animaux infectés. Ayant un LPS de phénotype rugueux (R-LPS), la souche RB51 interfère plus faiblement avec les tests sérologiques usuels (qui ciblent principalement les immunoglobulines dirigés contre le S-LPS).

La réponse sérologique des animaux adultes à la vaccination par voie injectable semble trop importante pour ensuite permettre une campagne de dépistage systématique. Par contre, l'instillation conjonctivale du vaccin à de jeunes animaux entraîne une réponse immunitaire de plus faible intensité, potentiellement compatible avec un dépistage sérologique post-vaccinal.<sup>(27, 46, 84, 132)</sup>

#### **XI.2) Historique de la vaccination anti-brucellique de la faune sauvage**

Les seules expérimentations de la vaccination anti-brucellique en milieu sauvage ont été réalisées dans le Parc National du Yellowstone (USA), afin de

lutter contre une épizootie de brucellose à *B. abortus* chez le bison (*Bison bison*) et le wapiti (*Cervus elaphus canadensis*).<sup>(87)</sup> Les symptômes observés chez les bisons sont semblables à ceux rencontrés chez les bovins : atteintes de la sphère reproductive, etc.<sup>(145)</sup>

La séroprévalence de la brucellose chez les milliers de bisons du Yellowstone est comprise entre 40 et 60 % (estimation de 2008). Les bisons sont probablement à l'origine de la contamination des wapitis.<sup>(84, 86, 87)</sup> Ces deux espèces infectées sont devenues des réservoirs primaires de *Brucella*, constituant une source de réinfection des ruminants domestiques des alentours.<sup>(46, 87, 145)</sup> Dans ce contexte qui rappelle celui du massif du Bargy, la vaccination du bison et du wapiti a été suggérée, puis mise en œuvre.

Chez le bison, les souches vaccinales testées ont été *B. abortus* B19 et *B. abortus* RB51. L'administration par voie parentérale de B19 n'a pas été une réussite sur la femelle gestante ; chez qui, ce vaccin a montré un niveau de virulence plus élevé que chez les bovins. Par contre, l'inoculation de B19 par voie conjonctivale chez des bisons non gestants demeure nettement mieux tolérée.<sup>(46)</sup>

Le vaccin RB51 semble bien supporté par les bisons, y compris par les femelles gestantes, mais aurait une efficacité modérée, et peut induire une excrétion de *Brucella* par l'animal vacciné. Un essai de modélisation suggère que des revaccinations larges et répétées de femelles avec RB51 réduiraient significativement le niveau d'infection à long terme (d'environ 66 % en 30 ans), sans pour autant éradiquer la brucellose.<sup>(46, 84, 87)</sup>

Chez le wapiti (animal proche du cerf élaphe), les souches *B. abortus* B19 et RB51 ont également été utilisées. RB51 a été jugé inefficace. Le vaccin B19 s'avère faiblement pathogène pour le wapiti puisqu'il n'induit que peu

d'avortements. B19 a été administré à distance (par implants balistiques biodégradables) à plusieurs dizaines de milliers de wapitis. L'efficacité de cette campagne de terrain paraît limitée, et n'aurait conduit qu'à une protection de l'ordre de 30 % des wapitis vaccinés. Ne permettant pas une bonne maîtrise de l'inoculation vaccinale, la voie balistique est en partie impliquée dans ce déficit d'efficacité. De plus, il ressort de cette expérimentation que B19 induit des réponses sérologiques indifférenciables de l'infection naturelle, et complique donc le suivi épidémiologique des wapitis. <sup>(46)</sup>

L'administration orale de RB51 a été expérimentée chez de nombreux ruminants sauvages de la faune américaine. Ces études ont mis en évidence une séroconversion, sans aucun effet secondaire cliniquement décelable. <sup>(46)</sup>

L'administration orale de microsphères d'alginate contenant la souche RB51 serait, chez certains ruminants sauvages, une méthode de vaccination efficace. Les muqueuses digestives neutraliseraient une part des bactéries, ce qui diminuerait le risque de survenue d'effets indésirables, tout en stimulant l'immunité. <sup>(130, 131)</sup>

Cependant, la vaccination anti-brucellique par appâts n'a pas dépassé le stade expérimental, car celle-ci ne permet pas une administration de doses vaccinales précises, et interroge sur les modalités de distribution du vaccin au sein de l'espèce cible et des espèces non cibles... <sup>(46)</sup>

## XII. VERS UNE VACCINATION DES BOUQUETINS DU MASSIF DU BARGY ?

### XII.1) Transposition des expérimentations américaines au massif du Bargy

Les situations du Yellowstone et du Bargy sont **comparables** dans la mesure où : 1°) Sur ces deux territoires, une espèce sauvage est très infectée par *Brucella* : 40 à 60 % des bisons du Yellowstone contre 35 % des bouquetins du Bargy. 2°) Ces deux réservoirs primaires sont des sources potentielles de contamination de la faune, notamment domestique. <sup>(43, 87)</sup>

Malgré ces convergences, les situations du Yellowstone et du Bargy demeurent **très différentes** dans la mesure où : 1°) L'infection du Bargy est cantonnée (pour le moment, du moins) à un espace limité et à un effectif d'animaux restreint. Dans le Yellowstone, l'effectif de la population à maîtriser est de plusieurs milliers d'individus ; dans le Bargy, cet effectif est désormais inférieur à 300 individus. 2°) La souche bactérienne du Yellowstone est *B. abortus*, alors que dans le Bargy, il s'agit de *B. melitensis*. 3°) Le bouquetin et le bison sont phylogénétiquement éloignés. <sup>(43, 87)</sup>

Il est donc difficile de transposer les données issues des expérimentations américaines au massif du Bargy. <sup>(46)</sup> La mise en œuvre d'une vaccination de la faune sauvage du Bargy apporterait probablement des résultats différents de ceux obtenus dans le Yellowstone.

Toutefois, les études menées dans le Yellowstone nous renseignent sur l'efficacité de certains modes d'administration de vaccin à la faune sauvage. Ainsi, la vaccination « par implants balistiques » ne paraît pas satisfaisante, car elle ne permet pas, d'une part, d'appliquer des doses vaccinales précises, d'autre part, de maîtriser la voie effective d'administration (qui peut être selon les tirs : sous-

cutanée, intramusculaire, intra-péritonéale, intra-mammaire ou intraveineuse). De même, la vaccination par le biais d'appâts oraux n'a, pour le moment, pas fait ses preuves dans le Yellowstone. Au regard des résultats américains, l'administration vaccinale la plus efficace chez les ruminants sauvages semble être, pour la brucellose, le mode manuel sur un animal capturé. <sup>(46)</sup>

## **XII.2) Vaccination de la chèvre : un savoir transposable aux bouquetins ?**

### **XII.2.a) Proximité phylogénétique de la chèvre et du bouquetin**

Comme les chèvres, les bouquetins appartiennent au genre *Capra*. À ce jour, aucune étude n'a été menée sur la vaccination anti-brucellique de caprinés autres que la chèvre domestique. En revanche, les données sur la vaccination de la chèvre sont nombreuses.

D'un point de vue phylogénétique, le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*) et la chèvre domestique (*Capra aegagrus hircus*) sont très proches. Ils peuvent s'accoupler, et donner naissance à des « hybrides vigoureux », eux-mêmes féconds. <sup>(42, 46, 76)</sup> Or, une espèce animale se caractérise, selon la définition couramment admise d'Ernst Mayr, comme « une population ou un ensemble de populations dont les individus peuvent effectivement ou potentiellement se reproduire entre eux et engendrer une descendance viable et féconde, dans des conditions naturelles ». La chèvre et le bouquetin des Alpes pourraient donc être génétiquement très proches, au point d'être considérés comme deux sous-espèces d'une même espèce. L'ANSES estime « que la taxonomie du genre *Capra* [...] mériterait une révision », et que « la forte proximité phylogénétique du bouquetin avec la chèvre permet de faire l'hypothèse d'une innocuité et d'une efficacité équivalentes du vaccin Rev. 1 chez les deux espèces ». <sup>(43)</sup> Pour appréhender au

mieux une éventuelle vaccination des bouquetins, intéressons-nous donc à la vaccination anti-brucellique des chèvres...

### **XII.2.b) Vaccination par Rev. 1 de la chèvre**

Si la France est reconnue indemne de brucellose chez les petits ruminants (caprins et ovins) dans 95 départements, c'est en grande partie grâce à l'utilisation du vaccin Rev. 1. <sup>(73)</sup>

**Efficacité à l'échelle d'une population : exemple.** Dans la province portugaise de Trás-os-Montes e Alto Douro, un programme associant vaccination anti-brucellique et dépistage-abattage débute en 2001. De 2001 à 2004, toutes les chèvres de la région sont vaccinées par la souche Rev. 1 administrée par voie conjonctivale. Chaque inoculation est accompagnée d'un prélèvement sanguin, soumis à analyse. Lorsque l'échantillon est positif à deux tests de dépistage, l'animal est abattu. Un an après la vaccination, les chèvres vaccinées sont à nouveau testées ; celles qui se révèlent séropositives sont abattues. Fin 2004, le programme de vaccination impliquant toutes les chèvres est arrêté. De 2001 à 2004, la séroprévalence caprine passe ainsi de 4,4 % [IC à 95 % = 4,2-4,6 %] à 1,4 % [IC à 95 % = 1,2-1,6 %]. De 2005 à 2007, une deuxième phase de gestion est entreprise : elle consiste à poursuivre l'abattage des animaux séropositifs et à vacciner uniquement les chevreaux de 3 à 6 mois. Fin 2007, la séroprévalence observée n'est plus que de 0,8 % [IC à 95 % = 0,7-0,8 %]. En 6 ans, la proportion de chèvres contaminées par *Brucella* a donc diminué d'environ 80 %. Les auteurs de cette étude estiment que la vaccination par Rev. 1 est le facteur ayant joué le rôle le plus important dans la diminution de la prévalence de la brucellose. <sup>(126)</sup>

L'efficacité de la vaccination sur l'incidence de la brucellose caprine est confirmée par plusieurs campagnes de ce type à travers le monde. <sup>(107, 129)</sup>

**Efficacité à l'échelle de l'individu.** La vaccination par Rev. 1 réduit fortement le risque de survenue d'une brucellose symptomatique consécutive à la pénétration d'une *Brucella* sauvage dans l'organisme. <sup>(128)</sup> Rev. 1 assurerait une protection immunitaire durant 2 à 4,5 ans, voire plus. <sup>(27, 46, 132)</sup>

Menée sur des ovins (autres petits ruminants massivement vaccinés par Rev. 1), une étude compare l'effet de l'inoculation d'une souche virulente de *Brucella melitensis* (H38) sur un groupe de brebis gestantes vaccinées par Rev. 1 par voie conjonctivale (N=14) et sur un autre groupe de brebis gestantes non vaccinées (N=13). Après inoculation de la souche virulente, dans le groupe vacciné, 14 % des femelles étaient excrétrices de *Brucella melitensis* H38 (taux d'avortement = 7 %) ; dans le groupe non vacciné, 77 % des femelles étaient excrétrices de *Brucella melitensis* H38 (taux d'avortement = 77 %). Bien que la taille des échantillons soit faible, ces résultats expérimentaux semblent illustrer l'effet du vaccin Rev. 1 sur la réduction du risque d'excrétion bactérienne, et donc sur la limitation de la circulation de *Brucella*. <sup>(161)</sup>

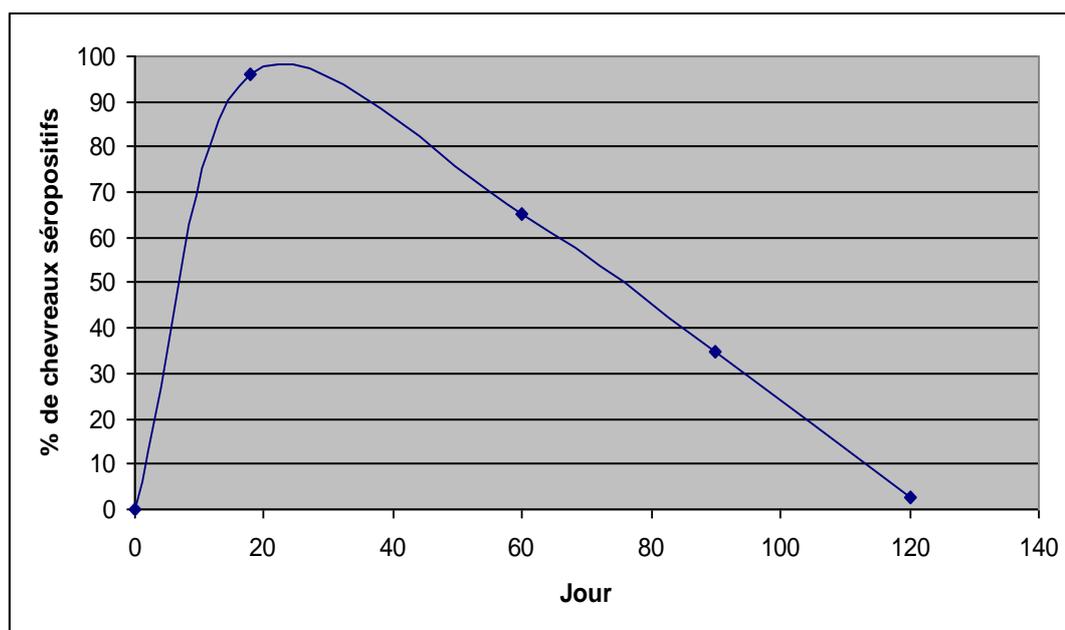
**Défaut d'innocuité.** Le principal effet indésirable de la vaccination par Rev. 1 est l'avortement. Celui-ci est fréquent lorsque le vaccin est administré par voie sous-cutanée à la dose standard. <sup>(127)</sup> L'administration d'une dose réduite de vaccin (par la même voie) limite fortement le risque d'avortement. <sup>(129)</sup> Bien que cela ne soit pas toujours clairement constaté, cette dose réduite conférerait une plus faible protection immunitaire. <sup>(27, 85, 127, 129)</sup> Des désaccords de recommandations entre auteurs pourraient s'expliquer par la variabilité des vaccins Rev. 1. En effet,

des différences d'efficacité et de virulence ont été observées selon les fabricants, et seraient à l'origine d'écarts de résultats d'un pays à l'autre. <sup>(127, 128)</sup> Le vaccin Rev. 1 peut aussi provoquer une excrétion de brucelles dans le lait des chèvres. Ces effets secondaires sont atténués lorsque la vaccination s'effectue en dehors des périodes de gestation et de lactation ; et lorsque le vaccin est inoculé par voie conjonctivale plutôt que par voie sous-cutanée. <sup>(27, 85)</sup>

**Interférences sérologiques.** Les anticorps produits suite à la vaccination par Rev. 1 ne sont généralement pas différenciables des anticorps produits par l'infection naturelle ; en découle une interférence entre la vaccination et le dépistage sérologique (cf. XI.1.d). Cette interférence est toutefois dépendante du mode d'administration du vaccin et de l'état immunitaire de l'animal.

Chez une chèvre adulte, l'administration d'un vaccin à dose standard par voie sous-cutanée génère des anticorps qui persistent durablement ; ce qui rend impossible la pratique du dépistage de masse. <sup>(71)</sup>

Par contre, une vaccination conjonctivale pratiquée chez le chevreau âgé de 3 à 6 mois permet un dépistage sérologique dès l'âge de 12 mois, tout en assurant une protection immunologique durant plusieurs années. <sup>(71)</sup> Ainsi, une étude albanaise a été menée sur 46 chevreaux séronégatifs âgés de 4 à 7 mois. 18 jours après leur vaccination conjonctivale, 44 chevreaux étaient séropositifs à l'épreuve du Rose Bengale (cf. VI.2.c). 4 mois après la vaccination, seulement 1 chevreau était encore séropositif au Rose Bengale. <sup>(125)</sup>



**Figure 15 :** Vaccination conjonctivale par Rev. 1 : réponse sérologique (à l'épreuve du Rose Bengale) d'un groupe de 46 chevreaux. Jour 0 = vaccination. <sup>(125)</sup>

Cette étude illustre le fait qu'au-delà d'un certain délai, une administration conjonctivale chez le chevreau limite fortement les interférences d'une vaccination avec les tests de dépistage. <sup>(125)</sup> Ce mode d'inoculation peut donc être compatible avec un programme de dépistage-abattage post-vaccinal. <sup>(27)</sup> Cependant, une vaccination exclusive des jeunes animaux n'est pas conciliable avec l'instauration rapide d'une immunité de groupe. <sup>(128)</sup>

En outre, comme le confirme une campagne de vaccination menée au Koweït chez les petits ruminants, l'inoculation d'une dose réduite de vaccin permet de diminuer « les interférences de dépistage » lorsque l'administration s'effectue par voie sous-cutanée. <sup>(129)</sup>

**Vigilance liée à la manipulation du vaccin.** Compte tenu de la virulence du vaccin pour l'homme, les manipulateurs doivent prendre des précautions particulières lors de son administration à l'animal, ainsi que lors de l'éventuelle

reconstitution du vaccin (lyophilisat à diluer), et ce, de manière à éviter les contaminations accidentelles de l'œil ou de la peau. Les manipulateurs doivent porter des gants et des lunettes. Après vaccination, le matériel d'injection doit être désinfecté. En cas de contact avec la peau, une asepsie doit être effectuée rapidement, suivie d'une consultation médicale. En cas de contamination accidentelle, la prise d'un traitement « post-exposition » à base de doxycycline et de rifampicine est préconisée (cf. V.9).<sup>(27, 91)</sup>

**Vaccination anti-brucellique de la chèvre : recommandations.** Selon l'OIE, la souche *B. melitensis* Rev. 1 est la seule reconnue suffisamment sûre et efficace pour une vaccination des chèvres contre *Brucella melitensis*. Le vaccin Rev. 1 est généralement administré aux chevreaux âgés de 3 à 6 mois en une seule injection par voie sous-cutanée à la dose de 0,5-2,0 x 10<sup>9</sup> organismes viables.<sup>(27)</sup> La voie sous-cutanée est plus fréquemment utilisée, mais la voie conjonctivale semble posséder plus d'avantages (possibilité d'un dépistage post-vaccinal et réduction des effets indésirables).<sup>(85)</sup>

Compte tenu de la durée de la protection immunitaire conférée par Rev. 1, l'OIE estime qu'il est raisonnable d'envisager une revaccination des chèvres dans les zones d'enzootie (≠ B19 pour les bovins).<sup>(27, 46, 132)</sup>

Ces recommandations pourraient être exploitées dans le cadre de l'instauration d'une campagne de vaccination des bouquetins (autres caprins).<sup>(43, 46)</sup>

## **XII.3) Discussion autour de la mise en place d'un programme de vaccination des bouquetins du Bargy**

### **XII.3.a) Intérêts d'une expérimentation vaccinale**

**Intérêt pour les équilibres écologiques.** L'éradication locale d'une population animale peut avoir, sur un écosystème, un impact, dont la nature et l'ampleur sont difficiles à prévoir. Ainsi, un abattage massif de renards peut conduire à une prolifération de rongeurs, puis à une modification en cascade des équilibres écologiques ; ce qui a notamment été observé lors des abattages à « finalité antirabique ». <sup>(89)</sup> Dans le massif du Bargy, la disparition des bouquetins pourrait, par exemple, menacer la présence d'un vautour rare et protégé, le gypaète barbu (*Gypaetus barbatus*), car cet oiseau nidifie souvent, au moins pour des raisons alimentaires, dans les zones fortement peuplées par *Capra ibex*, ongulé « vivant à découvert ». <sup>(133)</sup> Après éradication des bouquetins, le gypaète aurait vraisemblablement plus de mal à se nourrir. Inversement, un succès vaccinal permettrait de préserver l'espèce bouquetin sur le massif, et aurait *a priori* moins de conséquences sur les équilibres écologiques actuels.

### **Santé publique : intérêt pour la réduction d'une menace concrète.**

Mieux vaut s'attaquer, en amont, à une zoonose chez l'espèce animale qui l'entretient, plutôt que de combattre une infection sévère chez l'homme.

À première vue, l'abattage du plus grand nombre possible de bouquetins peut sembler être la solution la plus efficace pour lutter contre la brucellose en Haute-Savoie. Toutefois, selon l'ANSES : 1°) Une *tentative* d'abattage total serait vaine, et ne conduirait pas, à elle seule, à une éradication de *Brucella melitensis* du

massif du Bargy. 2°) Les seules modélisations aboutissant à une extinction de la brucellose s'appuient sur un recours à la vaccination. <sup>(43)</sup>

La vaccination n'est pas à envisager de façon isolée, mais doit être associée à des mesures complémentaires : surveillance clinique et sérologique, abattages plus ou moins vastes et ciblés, etc. <sup>(43)</sup> Dans le massif du Bargy, la vaccination de la faune sauvage pourrait contribuer à réduire, voire à annihiler, le risque de transmission de la maladie à la faune domestique et à l'homme.

**Santé publique : intérêt dans la lutte globale contre une zoonose.** Aucun suivi sanitaire des bouquetins n'a été effectué entre 1999 et 2012 dans le massif du Bargy. <sup>(43)</sup> Bien que réintroduite et protégée, *Capra ibex* reste une espèce peu surveillée. Sans la transmission « accidentelle » de *Brucella* à un troupeau bovin, l'important réservoir que constituent les bouquetins du Bargy pourrait aujourd'hui encore ne pas avoir été découvert. Il est donc possible que des épizooties de brucellose touchent actuellement d'autres populations de bouquetins, sans que cela soit connu.

Par le passé, des bouquetins furent déjà identifiés comme réservoir de *Brucella* dans le massif italien du Grand Paradis. <sup>(113, 116)</sup> La situation sanitaire du Bargy n'est donc pas totalement inédite et pourrait se réitérer (notamment dans les deux massifs voisins). <sup>(43)</sup> Une expérimentation vaccinale serait susceptible d'améliorer la gestion de futures épizooties de brucellose affectant d'autres populations de bouquetins.

Une telle expérimentation pourrait également apporter des éléments transposables à d'autres espèces. Un succès de la vaccination des bouquetins du Bargy pourrait, par exemple, ouvrir une voie de recherche portant sur la vaccination

anti-brucellique des sangliers en France ou sur l'immunisation d'autres espèces sauvages formant des réservoirs bactériens, notamment dans les régions endémiques : Afrique, Asie, Moyen-Orient, Yellowstone...

**Argument éthique.** Dans son *Discours de la Méthode*, René Descartes considère l'animal comme un automate obéissant à des stimuli, comme une machine dépourvue de sensibilité, de raison et de langage, sans aucun lien avec la « nature divine de l'âme humaine ». Dans cette configuration de pensée, la souffrance animale n'existe pas, et n'est donc pas un enjeu moral.

À l'inverse, dans son *Discours sur l'origine et les fondements de l'inégalité parmi les hommes*, Jean-Jacques Rousseau voit en l'animal un être sensible : « Si je suis obligé de ne faire aucun mal à mon semblable, c'est moins parce qu'il est un être raisonnable que parce qu'il est un être sensible ; qualité qui étant commune à la bête et à l'homme, doit au moins donner à l'un le droit de ne pas être maltraitée inutilement par l'autre. »

Ces considérations philosophiques traduisent l'existence d'un dilemme autour du sort que l'homme réserve à l'animal. Sur le plan scientifique (*au-delà de la génétique, de la physiologie et de la biochimie*), l'éthologie et la théorie de l'évolution de Charles Darwin mettent en évidence des ressemblances morphologiques, psychologiques et émotionnelles entre l'homme et certains mammifères. Compte tenu de cette parenté factuelle, il peut paraître raisonnable de vouloir éviter de détruire une population animale. De ce point de vue, la tentative de vaccination des bouquetins du massif du Bargy est une solution pouvant être jugée comme plus satisfaisante que la destruction de cette population sans

recherche d'alternatives. Néanmoins, cette considération morale subjective reste secondaire par rapport à la protection de la santé publique.

### **XII.3.b) Expérimentation sur le terrain : quels dangers ?**

La vérification de l'innocuité et de l'efficacité du vaccin Rev. 1 chez le bouquetin nécessiterait de mettre en œuvre de longs protocoles expérimentaux respectant la réglementation bio-sécuritaire encadrant la manipulation de *Brucella*, agent biologique pathogène du groupe 3 (cf. V.2). Ces essais thérapeutiques devraient, en outre, se dérouler en espace clos, ce qui semble difficilement réalisable. Conditionner la vaccination à de telles expérimentations revient à reporter de plusieurs années la possibilité de vacciner des bouquetins du massif du Bargy. <sup>(11, 12, 14, 15, 43)</sup>

Compte tenu, d'une part, de la relative urgence imposée par la situation sanitaire du Bargy, d'autre part, de la proximité phylogénétique de la chèvre et du bouquetin, l'ANSES envisage la possibilité de tester directement le vaccin sur le terrain, en misant sur « l'hypothèse d'une innocuité et d'une efficacité équivalentes du vaccin Rev. 1 chez les deux espèces » ; et donc en s'appuyant sur les connaissances relatives à la vaccination anti-brucellique de la chèvre. Une expérimentation directe sur le terrain devrait s'accompagner *a minima* de mesures permettant de vérifier l'innocuité du vaccin sur les bouquetins. <sup>(43, 76)</sup>

**À l'échelle d'un individu**, les risques éventuels d'une vaccination (avortement, arthrite...) sont à mettre en balance, premièrement, avec le risque de l'infection naturelle qui guette l'animal séronégatif, deuxièmement, avec « le risque d'abattage » qui, en l'absence de vaccination, menace l'ensemble des bouquetins du massif. <sup>(100)</sup>

**À l'échelle de la population**, un défaut d'innocuité du vaccin chez les bouquetins pourrait être à l'origine d'une excrétion post-vaccinale de la bactérie, susceptible de provoquer une dissémination de la souche *Brucella* Rev. 1 à travers la population de bouquetins. Le cas échéant, la vaccination pourrait avoir un effet contraire à celui recherché. <sup>(122)</sup>

Ce risque de dissémination est concrétisé par une étude menée sur un groupe de quinze moutons, chez qui *Brucella* était initialement indétectable au test PCR (cf. VI.1). Dix de ces moutons ont été vaccinés par Rev. 1. Puis, des prélèvements sanguins ont été effectués après la vaccination. Chez les animaux vaccinés, le test PCR s'est montré positif chez 100 % des individus à J+14, 90 % à J+21, 50 % à J+60. Chez les animaux non vaccinés, le test PCR s'est, plus étonnamment, révélé positif chez 40 % des individus à J+14 (puis chez 0 % d'entre eux à J+21 et J+60). La bactérie du vaccin est donc vraisemblablement passée, en très faible quantité, dans le sang de 2 des 5 moutons non vaccinés. Malgré la très petite taille de l'échantillon, cette étude qualitative tend à montrer que la vaccination d'un individu peut être à l'origine d'une dissémination de *Brucella* dans une population animale. <sup>(124)</sup> D'où l'importance de s'assurer de l'innocuité d'une souche sur une espèce animale avant de commencer une campagne de vaccination.

Si les bouquetins réagissent au vaccin comme les chèvres, Rev. 1 pourrait provoquer des avortements à l'origine d'une diffusion de la « bactérie vaccinale » dans l'environnement. <sup>(46, 126)</sup> Une vaccination pourrait également induire une excrétion de bactéries dans le lait. Mais cette diffusion par le lait est considérée comme étant irrégulière et faible, et a vraisemblablement une importance épidémiologique inférieure au « pouvoir contaminant des produits d'avortement ».

Le risque de dissémination de la souche vaccinale peut être considérablement atténué : 1°) soit en ne vaccinant que les animaux les plus jeunes, ce qui n'est pas compatible avec une protection rapide de l'ensemble de la population ; 2°) soit en vaccinant jusqu'à l'ensemble des animaux, mais en dehors des périodes de gestation et de lactation. <sup>(46)</sup>

### XII.3.c) Quel mode d'administration choisir ?

L'expérience acquise en termes de vaccination antirabique de la faune sauvage démontre que la technique des **appâts vaccinaux oraux** peut conduire à l'éradication d'un agent pathogène à caractère zoonotique. Cette méthode pourrait être transposée à la brucellose, mais aurait l'inconvénient de rendre impossible le contrôle de la dose prise par les différents bouquetins. En effet, certains animaux pourraient consommer plusieurs appâts (et d'autres aucun). <sup>(46, 88)</sup>

De plus, ces appâts pourraient être consommés par des espèces non cibles et indemnes. À l'heure actuelle, aucune étude ne permet de connaître l'innocuité d'un appât contenant Rev. 1 sur les différentes espèces susceptibles de le consommer dans le massif du Bargy : cerfs, chamois, chevreuils, renards, etc. Négliger ces études d'innocuité sur les autres espèces pourrait conduire à une diffusion de la brucellose à des espèces jusque-là épargnées... Nécessitant des études préalables chez les nombreuses espèces non cibles, le recours à la vaccination par appâts oraux ne paraît donc pas judicieux à court terme pour les bouquetins du Bargy. <sup>(46)</sup>

La vaccination « par **implants balistiques** », pratiquée sur les wapitis du Yellowstone, est peu précise, ne garantit pas une bonne administration de la souche, et induit un marquage sérologique incompatible avec les tests de dépistage. De son

côté, la **voie sous-cutanée** n'est pas la meilleure en termes d'innocuité, induit aussi un marquage sérologique, et nécessite la capture des animaux. <sup>(46)</sup>

La **voie conjonctivale** nécessite également la capture des bouquetins, mais a deux avantages cruciaux : 1°) elle limite la production d'anticorps, et donc les interférences avec les tests de dépistage ; 2°) elle réduit les effets secondaires de la vaccination (et notamment le risque de dissémination bactérienne). La voie conjonctivale semble, au final, être la voie d'administration à privilégier. <sup>(46)</sup>

La **capture des bouquetins** est une contrainte. Toutefois, lorsqu'ils n'évoluent pas sur des falaises difficiles d'accès, les bouquetins sont des animaux relativement faciles à approcher, ce qui rend possible leur capture par télé-anesthésie (réalisable à moins de 25 mètres de distance). Des dizaines de bouquetins du massif du Bargy ont d'ailleurs déjà été télé-anesthésiés pour être testés sur place. Par cette méthode, il semble envisageable de capturer une centaine d'individus par an. <sup>(43)</sup> Nécessitant une concertation d'experts, la mise en œuvre d'autres méthodes de capture pourrait faciliter la maîtrise de l'épizootie, et permettre de tester, dans le massif, jusqu'à 200 bouquetins par an. Certains ruminants sauvages sont d'ailleurs couramment capturés en terrain montagneux à des fins d'études par le biais d'appâts, de filets tombants, de lacets à patte, de pièges, de rabatteurs... La transposition de ces techniques aux bouquetins semble réaliste. Ces autres techniques de capture pourraient, en outre, diminuer les risques de contamination des opérateurs de terrain. <sup>(43, 76, 79, 152, 146)</sup>

#### **XII.3.d) Population cible**

Si les bouquetins réagissent de la même façon que les chèvres au vaccin Rev. 1, vacciner exclusivement les cabris âgés de 3 à 6 mois leur assurerait une

protection durant plusieurs années, tout en rendant un dépistage sérologique possible dès l'âge de 12 mois. La vaccination exclusive des cabris limiterait au maximum la survenue des effets secondaires du vaccin, ainsi que les risques d'excrétion de la souche vaccinale. Toutefois, les cabris peuvent être difficiles à télé-anesthésier, car protégés par leur mère. De plus, cette vaccination serait à répéter chaque année sur tous les nouveaux cabris, et ce, pendant au moins deux générations, soit 20 à 30 ans. <sup>(46, 71)</sup>



**Photographie 4 :** Étagne (bouquetin femelle) veillant sur son cabri sur une vire rocheuse. Dans ces conditions, la télé-anesthésie du cabri est difficile.

Une autre possibilité serait de vacciner (plutôt par voie conjonctivale) un maximum de bouquetins de tous les âges, ce qui pourrait protéger l'ensemble de la population du Bargy plus rapidement, mais une telle campagne s'accompagnerait d'une probabilité élevée d'apparition d'effets secondaires (avortements, orchites), d'un risque accru d'excrétion de la souche vaccinale, et ne serait *a priori* pas

compatible avec un dépistage sérologique post-vaccinal. Les inconvénients d'une vaccination de masse pourraient être minimisés si la campagne de vaccination était menée entre septembre et novembre, c'est-à-dire en dehors de la période allant du début de la gestation à la fin de la lactation. Par ailleurs, vacciner un animal déjà infecté ne modifierait pas l'évolution d'une infection brucellique chez les petits ruminants ; ce qui permettrait d'instaurer une campagne de vaccination sans opérer de dépistages préalables. <sup>(46)</sup>

Dans tous les cas de figure, les animaux vaccinés devraient être identifiés de façon individuelle et durable (par des boucles auriculaires ou des colliers colorés).

### **XII.3.e) Spécialités pharmaceutiques disponibles**

Les vaccins REV1 (pour la voie sous-cutanée) et OCUREV (pour la voie conjonctivale) disposent en France d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) contre la brucellose des ovins et des caprins. Ils sont fabriqués à partir de la souche *B. melitensis* Rev.1. Le vaccin REV1 est à conserver à une température comprise entre 2 °C et 8 °C, et doit être reconstitué par dilution du lyophilisat avant utilisation. <sup>(46, 91)</sup>

Ces deux spécialités ne sont cependant plus commercialisées en France. En UE, OCUREV du laboratoire Cooper-Zeltia Veterinaria (CZV) serait le seul vaccin actuellement disponible. Son importation semble donc nécessaire à l'instauration d'une campagne de vaccination des bouquetins du Bargy. L'utilisation d'un vaccin ne provenant pas de l'UE pourrait être envisagée, mais nécessiterait l'obtention d'une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU). <sup>(46)</sup>

**TITRE :**

PROPHYLAXIE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE :  
VERS UNE VACCINATION CIBLÉE DE LA FAUNE SAUVAGE ?  
*ÉTUDE DU CAS DES BOUQUETINS DU MASSIF DU BARGY*

## CONCLUSION

Le meilleur moyen de prévenir la brucellose humaine est la maîtrise de l'infection chez les espèces animales faisant office de réservoirs primaires de la bactérie. Lorsque ces réservoirs primaires sont des troupeaux domestiques, la vaccination, associée à des mesures de dépistage et d'abattage, réduit fortement l'incidence de la brucellose. Lorsque la prévalence de la maladie devient très faible sur un territoire, la vaccination est généralement arrêtée, ce qui améliore l'efficacité du dépistage, et permet d'éliminer les derniers foyers infectieux. De façon plus marginale, dans les régions enzootiques, l'injection d'antibiotiques aux animaux d'élevage infectés peut contribuer à réduire l'excrétion bactérienne, et donc la circulation de *Brucella*. En outre, la pasteurisation du lait reste un moyen efficace de diminuer le risque de transmission de la brucellose des élevages à l'homme.

Lorsque les réservoirs primaires de la brucellose sont des animaux sauvages, la gestion de la zoonose est plus difficile, particulièrement face à des systèmes « multi-hôtes ». Compte tenu de la grande diversité des situations observées, aucune règle générale ne semble pouvoir s'appliquer. Malgré de nombreuses incertitudes, la maîtrise de la brucellose de la faune sauvage reste impérative, car y renoncer peut conduire à la résurgence de la maladie dans les troupeaux d'élevage, puis chez l'homme.

Dans le massif du Bargy, des modélisations suggèrent que les abattages de bouquetins ne permettraient pas, à eux seuls, d'aboutir à une éradication de *Brucella melitensis*. Selon l'ANSES, les seuls scénarios pouvant conduire à une extinction de la brucellose s'appuient sur un recours à la vaccination (associé à des mesures complémentaires : surveillance clinique et sérologique, abattages plus ou moins vastes).

La proximité phylogénétique du bouquetin des Alpes et de la chèvre domestique permet de formuler l'hypothèse que l'efficacité et l'innocuité du vaccin vivant atténué Rev. 1 sont comparables chez ces deux espèces. En misant sur cette hypothèse, une expérimentation vaccinale sur le terrain pourrait être directement entreprise dans le massif du Bargy. Mais, dans ce cas, un défaut d'innocuité du vaccin chez le bouquetin pourrait être à l'origine de la diffusion de la souche bactérienne vaccinale dans l'environnement. Ce risque iatrogène doit cependant être mis en balance avec le risque de dissémination de *Brucella melitensis* biovar 3 lié à la situation d'infection naturelle chez les bouquetins.

Un choix judicieux de la voie vaccinale et de la population ciblée atténue le risque de dissémination de la souche Rev. 1. En l'état actuel des connaissances, les vaccinations par implants balistiques, par appâts oraux et par voie sous-cutanée semblent avoir, chez les bouquetins, un rapport bénéfice/risque inférieur à l'inoculation conjonctivale. Cette dernière a deux avantages décisifs : sa grande innocuité et sa possible conciliation avec un dépistage sérologique post-vaccinal.

Cibler exclusivement les bouquetins âgés de 3 à 6 mois semble être le choix présentant le moins de risques iatrogènes. Étendre la vaccination aux autres classes d'âges permettrait d'assurer une protection plus rapide de l'ensemble de la population, mais augmenterait la probabilité d'apparition d'effets secondaires et de dissémination bactérienne. Pour limiter ces inconvénients, une vaccination des animaux adultes devrait être pratiquée en dehors des périodes de gestation et de lactation, éventuellement à dose réduite.

Selon les méthodes de capture, il paraît techniquement possible de vacciner, par voie conjonctivale, entre 100 et 200 bouquetins par an dans le massif du Bargy. La manipulation des vaccins et des animaux brucelliques doit s'accompagner de précautions rigoureuses, afin de limiter le risque de contamination du personnel de terrain.

À une plus grande échelle, la vaccination de la faune sauvage est prometteuse, mais nécessite d'importants travaux de recherche. Comme l'ont compris les Anglais pour la tuberculose et les Américains pour la brucellose, ces efforts ont un intérêt majeur puisqu'une vaccination de la faune sauvage peut permettre de réduire l'incidence d'une zoonose, voire de l'éradiquer, tout en limitant l'ampleur d'abattages parfois contre-productifs et souvent déséquilibrants pour les écosystèmes. Au final, la vaccination de la faune sauvage peut s'avérer bénéfique pour la biodiversité, pour l'agriculture, pour l'économie et surtout pour la santé humaine, d'où l'intérêt de poursuivre des recherches (qui sont loin d'être vaines, comme en témoignent les renards indemnes de rage de nos forêts).

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER**

**Grenoble, le 28/04/16**

**LE DOYEN**

Pour la Présidente  
et par délégation  
Le Doyen de Pharmacie  
Pr. Michel SEVE

**Pr. Michel SEVE**

**LA PRÉSIDENTE DE LA THÈSE**

**Pr. Murielle CORNET**

# LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

## Figures

|  |     |
|--|-----|
| <u>Figure 1</u> : Cycle de <i>Brucella abortus</i> en Amérique du Nord, d'après Moreno. <sup>(25)</sup> .....  | 19  |
| <u>Figure 2</u> : Cycle épidémio-écologique des principales espèces de <i>Brucella</i> en France. ....   | 22  |
| <u>Figure 3</u> : Incidence humaine de la brucellose en France, 1976-2014. <sup>(5, 7, 147)</sup> .....  | 35  |
| <u>Figure 4</u> : Incidence annuelle moyenne de la brucellose humaine dans 5 pays de l'UE, 1995-2000. <sup>(24, 107)</sup> .....   | 38  |
| <u>Figure 5</u> : Incidence de la brucellose humaine et proportion de troupeaux non officiellement indemnes de brucellose dans 5 pays de l'UE en 2000. <sup>(24, 107)</sup> .....  | 38  |
| <u>Figure 6</u> : Les <i>Brucella</i> sauvages se répliquent dans les phagosomes des macrophages, alors que les souches de <i>Brucella</i> atténuées (utilisées pour les vaccins) sont détruites par les lysosomes. <sup>(159)</sup> ..... | 41  |
| <u>Figure 7</u> : <i>Brucella</i> (hémoculture, coloration de Gram). Source : Université de Franche-Comté, Besançon .....  | 55  |
| <u>Figure 8</u> : Évolution du pourcentage de bovins et de cheptels bovins infectés par <i>Brucella</i> , en France, entre 1968 et 1986. Graphique extrait du BEH, 1988, 41. <sup>(147)</sup> .....  | 63  |
| <u>Figure 9</u> : Schéma épidémiologique de la zoonose à <i>B. melitensis</i> dans le massif du Bargy, d'après l'ANSES. <sup>(42, 43)</sup> .....  | 72  |
| <u>Figure 10</u> : Évolution de la séroprévalence brucellique observée chez les bouquetins du Bargy suite aux abattages massifs de 2013. <sup>(43)</sup> .....   | 84  |
| <u>Figure 11</u> : Prédications du nombre de bouquetins excréteurs de <i>Brucella</i> pour le scénario 4 (tentative d'abattage total). Source : ANSES. <sup>(43)</sup> .....   | 87  |
| <u>Figure 12</u> : Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre <i>Brucella</i> . <sup>(160)</sup> .....  | 94  |
| <u>Figure 13</u> : Réponse immunologique classique à un antigène : évolution du nombre de lymphocytes spécifiques et de la production d'immunoglobulines. Graphique : ASSIM, 2011. <sup>(148)</sup> .....                                  | 96  |
| <u>Figure 14</u> : Schéma simplifié du cycle de la tuberculose à <i>M. bovis</i> au Sud-Ouest de l'Angleterre, d'après Delahay <i>et al.</i> , 2007. <sup>(63)</sup> .....   | 103 |
| <u>Figure 15</u> : Vaccination conjonctivale par Rev. 1 : réponse sérologique (à l'épreuve du Rose Bengale) d'un groupe de 46 chevreaux. Jour 0 = vaccination. <sup>(125)</sup> .....  | 119 |

## **Tableaux**

|   |    |
|---|----|
| <u>Tableau 1</u> : Traitement d'une brucellose aiguë. ....  | 48 |
| <u>Tableau 2</u> : Principales méthodes utilisées pour le diagnostic de la brucellose <sup>(1, 2, 3, 56)</sup> .....            | 60 |
| <u>Tableau 3</u> : Principales méthodes utilisées pour le sérodiagnostic de la brucellose <sup>(2, 3, 56)</sup> .....           | 60 |
| <u>Tableau 4</u> : Séroprévalence brucellique des bouquetins du massif du Bargy sur la période 2012-2014. <sup>(43)</sup> ..... | 84 |

## **Photographies**

|  |     |
|--|-----|
| <u>Photographie 1</u> : Le bouquetin se perche parfois dans des endroits difficiles d'accès pour les humains, ce qui complique la télé-anesthésie de l'animal. ....  | 75  |
| <u>Photographie 2</u> : Bouquetin des Alpes, mâle adulte.....  | 77  |
| <u>Photographie 3</u> : Les bouquetins (au second plan) fréquentent parfois simultanément les mêmes lieux que d'autres espèces (ici, au premier plan, des chamois), d'où un risque de transmission inter-espèces. .... | 81  |
| <u>Photographie 4</u> : Étagne (bouquetin femelle) veillant sur son cabri sur une vire rocheuse. Dans ces conditions, la télé-anesthésie du cabri est difficile.....   | 128 |

*(Photographies prises par l'auteur de la thèse.)*

## GLOSSAIRE

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché

**ANSES** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

**AOP** : Appellation d'Origine Protégée

**APDI** : Arrêté Préfectoral portant Déclaration d'Infection

**ARN** : Acide RiboNucléique

**ARS** : Agence Régionale de Santé

**ATU** : Autorisation Temporaire d'Utilisation

**AVK** : Antivitamine K

**BCG** : Bacille de Calmette et Guérin (ou vaccin Bilié de Calmette et Guérin)

**BEH** : Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

**CNPN** : Conseil National de Protection de la Nature

**CNR** : Centre National de Référence des *Brucella*

**CNRS** : Centre National de la Recherche Scientifique

**CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène

**CRP** : Protéine C réactive

**CTX** : Cotrimoxazole

**CZV** : Cooper-Zeltia Veterinaria S.A.

**EAT** : Épreuve à l'Antigène Tamponné

**ELISA** : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

**IC** : Intervalle de Confiance

**Ig** : Immunoglobuline

**IL** : Interleukine

**IFN $\gamma$**  : Interféron gamma

**INPES** : Institut National de Prévention et d'Éducation pour la Santé

**INR** : International Normalized Ratio

**INRS** : Institut National de Recherche et de Sécurité

**Inserm** : Institut national de la santé et de la recherche médicale

**InVS** : Institut de Veille Sanitaire

**IV** : Voie Intraveineuse

**LAMP** : Lysosome-Associated Membrane Proteins

**LPS** : Lipolysaccharide

**NFS** : Numération de la Formule Sanguine

**NK** : Natural Killer

**OIE** : Office International des Epizooties = Organisation Mondiale de la Santé Animale

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ONCFS** : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

**PAMP** : Pathogen Associated Molecular Patterns

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**SAW** : SéroAgglutination de Wright

**Th1** : Lymphocyte T helper 1

**Th2** : Lymphocyte T helper 2

**TLR** : Toll-Like Receptor

**UE** : Union Européenne

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UHT** : pasteurisation à Ultra Haute Température

**UI** : Unité Internationale

## BIBLIOGRAPHIE

- <sup>(1)</sup> MAURIN M. *Brucella*. In : FRENEY J., RENAUD F., LECLERCQ R., RIEGEL P. *Précis de Bactériologie Clinique*. Éd. ESKA, Paris, 2007 : 1377-1385.
- <sup>(2)</sup> MAILLES A., VAILLANT V. Étude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, 2002-2004. Institut de Veille Sanitaire, 2007.
- <sup>(3)</sup> MAURIN M., BRION J.-P. Brucellose. In : *Encyclopédie médico-chirurgicale (EMC), Maladies infectieuses*. Éd. Elsevier Masson SAS, Paris, 2009, 8-038-A-10.
- <sup>(4)</sup> BENREKASSA J., BRONNER A., CALAVAS D. *et al.* Zoonoses : pour une approche intégrée de la santé à l'interface Homme-Animal. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 2010, Hors-série du 14/09/2010.
- <sup>(5)</sup> Institut de Veille Sanitaire, site Internet consulté en février 2016.  
URL : <http://www.invs.sante.fr/>
- <sup>(6)</sup> BOUSSINI, TRAORE, TAMBOURA, BESSIN, BOLY, OUEDRAOGO. Prévalence de la tuberculose et de la brucellose dans les élevages bovins laitiers intra-urbains et périurbains de la ville d'Ouagadougou au Burkina Faso. *Rev. sci. tech. off. int. epiz.*, 2012, 31(3) : 943-951.
- <sup>(7)</sup> ROUX J. Épidémiologie et prévention de la brucellose.  
*Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé*, 1979, 57(2) : 179-194.
- <sup>(8)</sup> BOUKARY A., SAEGERMAN C., ADEHOSSI E., MATTHYS F., VIAS G., YENIKOYE A., THYS E. La brucellose en Afrique subsaharienne.  
*Ann. Méd. Vét.*, 2014, 158 : 39-56.
- <sup>(9)</sup> Article D3113-6 (Modifié par Décret n°2014-333 du 13 mars 2014 - art. 1) et Article D3112-7 du Code la santé publique.
- <sup>(10)</sup> BENET J.J., PRAUD A. *et al.* La tuberculose animale. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Écoles Nationales Vétérinaires françaises, Merial, Lyon, 2015.
- <sup>(11)</sup> Arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes. *Journal officiel de la République Française*, 1994, 175 : 11078.

(12) Décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques et modifiant le code du travail. *Journal officiel de la République Française*, 1995, 105 : 6620.

(13) Anonyme(s). Les risques biologiques. CNRS, site Internet consulté en 02/2016.

URL : <http://www.cnrs.fr/infoslabos/reglementation/agentspatho.htm>

(14) Anonyme(s). Description des confinements recommandés par la Commission de Génie Génétique. CNRS, site Internet consulté en février 2016.

URL : <http://www.cnrs.fr/infoslabos/reglementation/CGGrecommand.htm>

(15) BLEUX C., BRION P., JACQUIER M. *et al.* Les cahiers de prévention. Risques biologiques. Édité par le CNRS. 3<sup>e</sup> édition, 2014 : 58-59.

(16) VERGER J.M., GARIN-BASTUJI B., CRAYON M., MAHE A.M. La brucellose bovine à *Brucella melitensis* en France.

*Annales de Recherches Vétérinaires*, 1989, 20(1) : 93-102.

(17) DE MASSIS F., DI GIROLAMO A., PETRINI A., PIZZIGALLO E., GIOVANNINI A. Correlation between animal and human brucellosis in Italy during the period 1997-2002. *Clinical Microbiology and Infection*, 2005, 11 : 632-636.

(18) YOUNG E. An overview of human brucellosis. *Clin. Infect. Dis.*, 1995, 21 : 283-9.

(19) THAKUR S., KUMAR R., THAPLIYAL D. Human brucellosis: review of an under-diagnosed animal transmitted disease. *J. Commun. Dis.*, 2002, 34(4) : 287-301.

(20) KHAN M., MAH M., MEMISH Z. Brucellosis in pregnant women. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, 32 : 1172-7.

(21) AYGEN B., DOGANAY M., SUMERKAN B., YILDIZ O., KAYABAS U. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. *Med. Mal. Inf.*, 2002, 32 : 485-93.

(22) Anonyme(s). Fiche thérapeutique n° 5 : « Brucellose », version 4 datée du 24/10/2008. ANSM - Afssaps.

Site Internet de l'ANSM - URL : <http://ansm.sante.fr/> - Consulté en mars 2016.

(23) CHAKROUN M., BOUZOUAIA N. La brucellose : une zoonose toujours d'actualité. *Rev Tun Infectiol*, 2007, 1(2) : 1-10.

(24) La Banque Mondiale, site Internet.

URL : <http://donnees.banquemondiale.org> – Consulté en février 2016.

(25) MORENO E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Frontiers in microbiology*, 2014, 5(213) : 1-18.

(26) Anonyme(s). Fiche sur la brucellose. INRS. Décembre 2013.

Site Internet de l'INRS, consulté en mars 2016. - URL : [http://www.inrs.fr/eficatt/eficatt.nsf/\(allIDocParRef\)/FCBRUCELLOSE?OpenDocument](http://www.inrs.fr/eficatt/eficatt.nsf/(allIDocParRef)/FCBRUCELLOSE?OpenDocument)

(27) Anonyme(s). Brucellose ovine et caprine.

In : *Manuel terrestre de l'OIE*, 2005 : 662-671.

(28) BROCK T., MADIGAN M., MARTINKO J. *Biologie des micro-organismes*. 11<sup>e</sup> édition. Éd. Pearson, Paris, 2007.

(29) VITAL DURAND D., LEJEUNNE C. *et al. Guide pratique des médicaments DOROSZ*. 35<sup>e</sup> édition, Ed. Maloine, Paris, 2016.

(30) TOMA B., ANDRE-FONTAINE G., ARTOIS J.C. *et al. Les Zoonoses infectieuses*. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Écoles Nationales Vétérinaires françaises, Mérial, Lyon, 2008.

(31) BOULOUIS H. Maladie des griffes du chat. Fiche distribuée par le Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2007.

(32) RAUTUREAU S., DUFOUR B., GARIN-BASTUJI B. Maintenir la vigilance contre la brucellose bovine en France en 2011. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2011, 54 : 13-15.

(33) Arrêté du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés. *Journal officiel de la République Française*, 2008.

(34) AYMERIC J.L., LEFRANC G. *Immunologie humaine*.

Éd. De Boeck, Bruxelles, 2009.

(35) BRONNER A., LEDRU M., GARIN-BASTUJI B. Étude de cas sur les foyers de brucellose porcine à *Brucella suis* biovar 2 en France métropolitaine entre 1993 et 2008. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2011, 42 : 6-10.

(36) Arrêté du 15 mars 2002 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la brucellose des suidés domestiques et sauvages en élevage. *Journal officiel de la République Française*, 2002.

(37) Arrêté du 14 novembre 2005 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la brucellose des suidés en élevage.

(38) VAILLANT V., GARIN-BASTUJI B., BRUN M., LOUGUET Y *et al.* Séroprévalence humaine autour des foyers porcins de brucellose à *Brucella suis* biovar 2, France, 1993-2003. InVS, site Internet, publié en 2005, consulté en février 2016.

URL : [http://www.invs.sante.fr/publications/2005/brucellose\\_210305/](http://www.invs.sante.fr/publications/2005/brucellose_210305/)

(39) Anonyme(s). Brucellose porcine. In : *Manuel terrestre de l'OIE*. 2008 : 1213-1219.

(40) GARIN-BASTUJI B., HARS J. Situation épidémiologique de la brucellose à *Brucella suis* biovar 2 en France. *Bulletin épidémiologique*, 2001, 2 : 3-4.

(41) ANSES. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la brucellose sur le massif du Bargy, Haute Savoie. 2013.

(42) ANSES. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « mesures à prendre sur les bouquetins pour lutter contre la brucellose sur le massif du Bargy, Haute-Savoie ». 2013.

(43) GANIERE J.P., THIRY E., GAUTHIER D. *et al.* Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy ». 2015.

(44) ANSES. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la survie de *Brucella* dans les produits laitiers. 2012.

(45) GAUTHIER D., MARTINOT J.P., CHATAIN G., CHOISY J.P. *et al.* Charte pour la réintroduction des bouquetins en France. Diffusée par le Groupe national bouquetins, Parc National de la Vanoise, 2009.

(46) ANSES. Note intermédiaire relative aux aspects réglementaires et technique de la vaccination. In : Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy ». 2015.

- (47) NICOLAS J., BOSGIRAUD C. Calendrier des vaccinations. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Éd. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001, 5 : 585-603.
- (48) NICOLAS J., BOSGIRAUD C. Vaccins : préparation et règles d'utilisation. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Éd. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001, 5 : 559-584.
- (49) Organisation Mondiale de la Santé, site Internet. URL : <http://www.who.int/> - Consulté en février 2016.
- (50) Direction générale de la Santé, Comité technique des vaccinations.  
*Guide des vaccinations Édition 2012.* Saint-Denis : Inpes, coll. Varia, 2012.
- (51) BEGUE P., BOUMSELL L., BUISSON Y. *et al.* *Vaccination : Actualités et perspectives.* Les Éditions INSERM, Paris, 1999.
- (52) DUBRAY G. La vaccination des Ruminants contre la brucellose. *Veterinary Research,* BioMed Central, 1995, 26(3) : 201-203.
- (53) CONNER C. *Une Histoire populaire des sciences.* Éditions L'Échappée, Paris, 2011.
- (54) NEEDHAM J., GWEI-DJEN L. *Science and Civilization in China.* Ed. Cambridge University Press, Cambridge, 2000, 6(6) : 154.
- (55) JANBON F. Brucellose. In : DABERNAT H., PETITJEAN O., SCHLEMMER B., STAHL J.-P., WEINBRECK P. *Infectiologie de A à Z.* Éd. Arnette, Rueil Malmaison, 1997 : 113-114.
- (56) HANSEN W., RAMUZ M. *Brucella.* In : FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C. *Précis de bactériologie clinique.* Éd. ESKA, Paris, 2000 : 1414-1423.
- (57) BASTIDE L. La vaccination par le Bacille de Calmette et Guérin (BCG) en France, ou pourquoi ses limites pourraient la conduire à une modification de sa politique d'application vaccinale. *Thèse présentée pour l'obtention du Doctorat en pharmacie.* Université Joseph Fourier, Faculté de Pharmacie de Grenoble, 2004.
- (58) CURE M., BOUTEILLE B., BRISABOIS A. *et al.* *Le risque biologique.* Édition Masson, Issy-les-Moulineaux, 2004.

(59) MICHAUX S., PAILLISSON J., CARLES-NURIT M., BOURG G., ALLARDET-SERVENT A., RAMUZ M. Presence of two independent chromosomes in the *Brucella melitensis* 16M genome. *J Bacteriol*, 1993, 175(3) : 701-705.

(60) Arrêté du 22 août 2011 relatif à la notification obligatoire des maladies infectieuses et autres maladies mentionnées à l'article D. 3113-7 du code de la santé publique. *Journal officiel de la République Française*, 2011, 198.

(61) CARUS W.S. *Bioterrorism and biocrimes, The illicit Use of Biological Agents Since 1900*. National Defense University, Washington D.C., 2001.

(62) BAROYEN O., BLASKOVIČ D., EVANG K. *et al.* Aspects Santé des Armes Chimiques et Biologiques. *Organisation Mondiale de la Santé*, 1970.

(63) DELAHAY R.J., SMITH G.C., BARLOW A.M., WALKER N., HARRIS A., CLIFTON-HADLEY R.S., CHEESEMAN C.L. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England : A survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *The Veterinary Journal*, 2007, 173 : 287-301.

(64) RAPP C., PULCINI C., TATTEVIN P. *et al.* *E. Pilly 2016. Maladies infectieuses et tropicales*. Éd. Collège des Universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales Alinea Plus, Paris, 2015.

(65) GUIRAUD J.P. *Microbiologie alimentaire*. Éd. Dunod, Paris, 1998.

(66) PHILIPPON A., GARIN-BASTUJI B. *Brucella*. Cours de Bactériologie, Faculté de Médecine de Cochin-Port-Royal, 2005.

Site Internet – URL : <http://microbes-edu.org/professionnel/brucellavf.html>

(67) FEDIAEVSKY A., DUFOUR B., GARIN-BASTUJI B. Maintien de la vigilance contre la brucellose bovine en France en 2010. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2011, 46 : 10-14.

(68) Anonyme(s). Guide pour l'investigation épidémiologique : Brucellose.

Institut de Veille Sanitaire, 2001.

(69) TIALLA D., KONE P., KADJA M.C., KAMGA-WALADJO A., DIENG C.B., NDOYE N., KOUAME K., BAKOU S., AKAKPO A. Prévalence de la brucellose bovine et comportements à risque associés à cette zoonose dans la zone périurbaine de Dakar au

Sénégal. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 2014, 67(2) : 67-72.

<sup>(70)</sup> GANIERE J.P. et anonymes. La brucellose animale. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Écoles Nationales Vétérinaires françaises, Mérial, Lyon, 2004.

<sup>(71)</sup> LAABERKI M.H., GANIERE J.P. *et al.* La brucellose animale. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Écoles Nationales Vétérinaires françaises, Mérial, Lyon, 2014.

<sup>(72)</sup> RAUTUREAU S., GARIN-BASTUJI B., DUFOUR B. Aucun foyer de brucellose ovine et caprine détecté en France en 2011. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2012, 54 : 16-19.

<sup>(73)</sup> PERRIN J.B., RAUTUREAU S., BRONNER A., HOSTEING S., JAY M., GARIN-BASTUJI B., DUFOUR B. Brucellose des petits ruminants en 2014 : 95 départements de France métropolitaine sont désormais indemnes. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2015, 71 : 17-21.

<sup>(74)</sup> Anonyme(s). Fiches d'informations générales sur les maladies : Brucellose. Organisation mondiale de la santé animale, Paris, 2011.

<sup>(75)</sup> PERRIN J.B., RAUTUREAU S., BRONNER A., HOSTEING S., DUFOUR B., GARIN-BASTUJI B., JAY M. L'absence de brucellose bovine est confirmée en 2014, mais la vigilance reste de mise. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2015, 71 : 12-16.

<sup>(76)</sup> HAINARD R. *Mammifères sauvages d'Europe*. Éd. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel-Paris, 1988, 2 : 124-145.

<sup>(77)</sup> Arrêté du 23 avril 2007 fixant la liste des mammifères terrestres protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection. *Journal officiel de la République Française*, 2007.

<sup>(78)</sup> Article L 411-2-4° du Code de l'environnement.

<sup>(79)</sup> WEBER E. *Sur les traces des bouquetins d'Europe*. Éd. Delachaux et Niestlé, Lausanne-Paris, 1994.

<sup>(80)</sup> FERRARO F. *Pratique courante en vaccination*. Éd. Vernazobres-Gregio, Paris, 2011.

(81) AJJAN N. *La vaccination. Manuel pratique de tous les vaccins*. Éd. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, 2009.

(82) BEGUE P., BOUMSELL L., BUISSON Y. *et al. Vaccination : Actualités et perspectives. Synthèse et recommandations*. Les Éditions INSERM, Paris, 1999.

(83) PAUL S., AUTRAN B., JEANNIN P., LELIEVRE J.D. Mécanisme d'action des vaccins, rôle des adjuvants. Collège des immunologistes de médecine, 2010.

Site Internet (consulté en mars 2016) – URL :

<http://www.assim.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-13.10.vaccins.pdf>

(84) TREANOR J., JOHNSON J., WALLEN R., CILLES S., CROWLEY P., COX J., MAEHR D., WHITE P., PLUMB G. Vaccination strategies for managing brucellosis in Yellowstone bison. *Vaccine*, 2010, 28, Suppl. 5 : F64–F72.

(85) BLASCO J.M. A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev Vet Med.*, 1997, 31(3-4) : 275-283.

(86) OLSEN S.C., JOHNSON C.. Immune Responses and Safety after Dart or Booster Vaccination of Bison with *Brucella abortus* Strain RB51. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(5) : 642–648.

(87) TREANOR J. The biology and management of brucellosis in Yellowstone bison. *Dissertation*. University of Kentucky, 2012.

(88) FLAMAND A. La vaccination orale contre la rage, bilan et perspectives. *Virologie*, 1997, 1(2) : 91-93.

(89) BLANCOU J., PASTORET P., BROCHIER B., THOMAS I., BOGEL K. La vaccination antirabique des animaux sauvages. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1988, 7 (4) : 989-1003.

(90) PONCON N., DACHEUX L., PICARD E., DEBAERE O., BRONNER A., CLIQUET F., BOURHY H. La rage en France métropolitaine : bilan de la situation actuelle. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2010, 39 : 2-4.

(91) Anonyme(s). REV : Résumé des caractéristiques du Produit. Agence Nationale du Médicament Vétérinaire, Fougères, 2015.

(92) Anonyme(s). Fiches d'informations générales sur les maladies : Tuberculose bovine. Organisation mondiale de la santé animale, Paris, 2011.

<sup>(93)</sup> Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, site Internet consulté en février 2016.

URL : <https://www.anses.fr/fr/content/la-tuberculose-bovine>

<sup>(94)</sup> Anonyme(s). Fiche descriptive de la tuberculose des ruminants. AFSSA, 2007.

URL : <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Fi-TUB.pdf> (consulté en mars 2016)

<sup>(95)</sup> DUFOUR B., BENET J.J., BOSCHIROLI M.L. *et al.* Tuberculose bovine et faune sauvage. *Rapport*. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort, 2011.

<sup>(96)</sup> HARS J., GARIN-BASTUJI B., RICHOMME C., PAYNE A., ROSSI S. De l'éradication à la réapparition des maladies infectieuses. Les dangers de la faune sauvage : contexte et outils de gestion. *Épidémiologie et santé animale*, 2013, 64 : 57-69

<sup>(97)</sup> HARS J., RICHOMME C., RIVIERE J., PAYNE A., FAURE E., BOSCHIROLI M.L. La tuberculose bovine dans la faune sauvage en France. Risques pour l'élevage bovin. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 2013, 166(3) : 222-228.

<sup>(98)</sup> DROUET E. Tuberculose, grippe et virus respiratoires. Polycopié. Faculté de Pharmacie, Université Joseph-Fourier, Grenoble, 2012.

<sup>(99)</sup> Avis relatif à l'approbation par la Commission européenne de la modification du cahier des charges de l'appellation d'origine protégée « Reblochon » ou « Reblochon de Savoie ». *Journal officiel de la République Française*, 29 avril 2015.

<sup>(100)</sup> ECHAUBARD M. Avis sur la demande d'abattage des bouquetins du massif du Bargy. Commission faune du Conseil National de Protection de la Nature réunie le 11 septembre 2013.

<sup>(101)</sup> BOULLET V. Avis sur la demande de dérogation présentée par Monsieur le Préfet du département de Haute-Savoie concernant la capture et la destruction de bouquetins des Alpes dans le massif du Bargy en date du 10 septembre 2015. Comité permanent du Conseil National de Protection de la Nature réuni le 15 septembre 2015.

<sup>(102)</sup> Arrêté n° DDT-2015-0513. Recueil des Actes Administratifs du 17 septembre 2015, Préfecture de la Haute-Savoie.

<sup>(103)</sup> Communiqué de presse : lutte contre la brucellose des bouquetins du Bargy. Service Interministériel de la Communication des services de l'État, 9 octobre 2015.

- (104) CAPASSO L. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epi-zoonoses in Roman populations. *J. Infect.*, 2002, 45(2) : 122–127.
- (105) D'ANASTASIO R., STANISCIA T., MILIA M.L., MANZOLI L., CAPASSO L. Origin, evolution and paleoepidemiology of brucellosis. *Epidemiology and Infection*, 2011, 139 : 149-156.
- (106) WYATT H.V. How Themistocles Zammit found Malta Fever (brucellosis) to be transmitted by the milk of goats. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 2005, 98 (10) : 451-454.
- (107) GODFROID J., KASBOHRER A. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. *Veterinary Microbiology*, 2002, 90 (1-4) : 135-145.
- (108) HASANJANI ROUSHAN M.R., EBRAHIMPOUR S. Human brucellosis: An overview. *Caspian J Intern Med*, 2015, 6(1) : 46-47.
- (109) BUZGAN T., KARAHOCAGIL M.K., IRMAK H., BARAN A.I., KARSEN H., EVIRGEN O., AKDENIZ H. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*, 2010, 14(6) : 469-478.
- (110) YOUNG E.J. *Brucella* species (brucellosis). In : YU V., WEBER, R., RAOULT D. *et al. Antimicrobial therapy and vaccines*. Apple Tree Productions, New York, 2002 : 121-140.
- (111) Anonymes. VIDAL. *Le Dictionnaire*. Éd. Vidal, Paris, 2015.
- (112) AL-TAWFIQ A., MEMISH A. Pregnancy associated brucellosis. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 2013, 8(1) : 47-50.
- (113) FERROGLIO E., TOLARI F., BOLLO E., BASSANO B. Isolation of *Brucella melitensis* from Alpine Ibex. *Journal of Wildlife Disease*, 1998, 34(2) : 400-402.
- (114) MAILLES A., RAUTUREAU S., LE HORGNE J.M., POIGNET-LEROUX B., D'ARNOUX C., DENNETIERE G., FAURE M., LAVIGNE J.P., BRU J.P., GARIN-BASTUJI B. Re-emergence of brucellosis in cattle in France and risk for human health. *Eurosurveillance*, 2012, 17(30) : 13-15.

- <sup>(115)</sup> GARIN-BASTUJI B., OUDAR J., RICHARD Y., GASTELLU J. Isolation of *Brucella melitensis* biovar 3 from a chamois (*Rupicapra rupicapra*) in the southern French Alps. *Journal of Wildlife Disease*, 1990, 26(1) : 116-8.
- <sup>(116)</sup> BASSANO B., GENNERO S., LUZZAGO C., BRUNO S., FERROGLIO E. Brucellosis and infectious diseases did not drive the decreasing of Alpine ibex (*Capra ibex*) population in Gran Paradiso National Park (Italy). Parco Nazionale Gran Paradiso - Parc Naziunal Svizzer, 2014.
- <sup>(117)</sup> Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe. Annexe III – Espèces de faune protégée. Conseil de l'Europe, Berne, 1979.
- <sup>(118)</sup> CHOISY J.P., GAUTHIER D., ORMEA P. *et al.* Stratégie de restauration des Bouquetins en France (2000-2015). Rapport diffusé par le Groupe national bouquetins, Parc National de la Vanoise, 2009.
- <sup>(119)</sup> DUBIE T., ADUGNA M., SISAY T., MUKITAR Y. The economic and public health significance of brucellosis. *Global Research Journal of Public Health and Epidemiology*, 2014, 1(7) : 54-64.
- <sup>(120)</sup> Groupe national bouquetins, site Internet consulté en février 2016. URL : <http://groupe-national-bouquetins.fr/>
- <sup>(121)</sup> RADWAN A., BEKAIRI S. MUKAYEL A., AL-BOKMY A., PRASAD P., AZAR F., COLOYAN E. Control of *Brucella melitensis* infection in a camel herd in Saudi Arabia using antibiotherapy and vaccination with Rev. 1 vaccine. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Épizooties*, 1995, 14(3) : 719-732.
- <sup>(122)</sup> ZUNDEL E., VERGER J.M., GRAYON M., MICHEL R. Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine : safety and serological responses. *Ann Res Vet*, 1992, 23: 177–188.
- <sup>(123)</sup> BENKIRANE A., EL IDRISSE A.H., DOUMBIA A., DE BALOGH K. Innocuity and immune response to *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine in camels (*Camelus dromedarius*). *Open Veterinary Journal*, 2014, 4(2) : 96-102.
- <sup>(124)</sup> KOJOURI G.A., GHOLAMI M. Post vaccination follow-up of *Brucella melitensis* in blood stream of sheep by PCR assay. *Comparative Clinical Pathology*, 2009, 18(4) : 439–442.

- (125) KOLECI X., CONNOR R., KIRANDJISKI T., KEÇI R. Preliminary results of sero-conversion of kids and lambs vaccinated with *Brucella melitensis* Rev. 1 strain. Current achievements and feature challenges on brucellosis. *Albanian j. agric. sci.*, 2014, Special edition : 431-436.
- (126) COELHO A.M., PINTO M.L., GARCIA DIEZ J., COELHO A.C. Impact of *B. melitensis* Rev-1 vaccination on brucellosis prevalence. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2015, 39 : 261-270.
- (127) BLASCO J.M. A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev Vet Med*, 1997, 31(3-4) : 275-283.
- (128) NICOLETTI P. Brucellosis : Past, Present and Future. *Sec. Biol. Med. Sci.*, 2010, 31(1) : 21–32.
- (129) SCHARP D.W., AL KHALAF S.A., AL MUHANNA M.W., CHEEMA R.A., GODANA W. Use of mass vaccination with a reduced dose of REV 1 vaccine for *Brucella melitensis* control in a population of small ruminants. *Trop Anim Health Prod*, 1999, 31(3) : 135-41.
- (130) ARENAS-GAMBOA A.M., FICHT T.A., DAVIS D.S., ELZER P.H., WONG-GONZALEZ A., RICE-FICHT A.C. Enhanced immune response of red deer (*Cervus elaphus*) to live rb51 vaccine strain using composite microspheres. *J Wildl Dis*, 2009, 45(1) : 165-73.
- (131) ARENAS A.M., FICHT T.A., DAVIS D.S., ELZER P.H., KAHL-MCDONAGH M., WONG-GONZALEZ A., RICE-FICHT A.C. Oral vaccination with microencapsuled strain 19 vaccine confers enhanced protection against *Brucella abortus* strain 2308 challenge in red deer (*Cervus elaphus elaphus*). *J Wildl Dis*, 2009, 45(4) : 1021-1029.
- (132) Anonymes. Brucellose bovine. In : *Manuel terrestre de l'OIE*, 2005 : 457-488.
- (133) BOGLIANI G., VITERBI R., NICOLINO M. Habitat Use by a Reintroduced Population of Bearded Vultures (*Gypaetus barbatus*) in the Italian Alps. *Journal of Raptor Research*, 2011, 45(1) : 56-62.
- (134) FEROOZ J. Le flagelle de *Brucella melitensis* : caractérisation de la structure et de la régulation flagellaire. *Dissertation en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences*. Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur, 2009.

- (135) FEROOZ J., LETESSON J.J. Morphological analysis of the sheated flagellum of *Brucella melitensis*. *BMC Research Notes*, 2010, 3 : 333.
- (136) GUZMAN-VERI C., GONZALEZ-BARRIENTOS R., HERNANDEZ-MORA G., MORALES J.A., BAQUERO-CALVO E., CHAVES-OLARTE E., MORENO E. *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2012, 2(3) : 1-22.
- (137) DAO S., TRAORE M., SANGHO A., DANTOUME K., OUMAR A.A., MAIGA M., BOUGOUDOGO F. Séroprévalence de la brucellose humaine à Mopti, Mali. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 2009, 2 : 24-26.
- (138) GAUTHIER-PRIEUR M., LANFANT K., GRISE G., LATROUS J., FERNANDO DA SILVA L. Spondylite brucellienne : une affection qui existe encore ! *La lettre du Rhumatologue*, 2007, 334 : 29-31.
- (139) PEYRON I., THUILLIER A. Les aminosides utilisés par voie parentérale. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001. 5 : 645-656.
- (140) FARHANG-ASNAFI S., DIVINE C., CONORT O. Les tétracyclines. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001. 5 : 749-760.
- (141) JUNOT H., FIEVET M.-H., THUILLIER A. Les antituberculeux. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001. 5 : 623-631.
- (142) RICHARD D., ROUX C. Sulfamides antibactériens et diaminopyrimidines. In : BELJEAN-LEYMARIE, BOURLIOUX, DOUTREMEPUICH *et al.* *Collection Le Moniteur Internat.* 2<sup>e</sup> édition. Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 2001. 5 : 735-748.
- (143) MAILLES A., VAILLANT V. Bilan de 10 années de surveillance de la tularémie chez l'Homme en France. Institut de Veille Sanitaire, 2013.
- (144) Arrêté du 3 novembre 2005 modifiant l'arrêté du 20 mars 1990 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la police sanitaire et à la prophylaxie collective de la brucellose bovine. *Journal officiel de la République Française*, 2005, 258 : 17440.

(145) FREYCON P. Rôle du Bouquetin *Capra ibex* dans l'épidémiologie de la brucellose à *Brucella melitensis* en Haute Savoie. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard – Lyon I, 2015.

(146) HARS J., RAUTUREAU S., JAY M., GAME Y., GAUTHIER D., HERBAUX J.-P., LE HORGNE J.-M., MAUCCI E., PASQUIER J.-J., VANISCOTTE A., MICK V., GARIN-BASTUJI B. Un foyer de brucellose chez les ongulés sauvages du massif du Bargy en Haute-Savoie. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2013, 60 : 2-7.

(147) HEURTIER-HARTEMANN A., HUBERT B., GAILLOT B. La brucellose en France en 1986 et 1987. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 1988, 41 : 161-163.

(148) CARCELAIN G., LABALETTE M., RADOSAVLJEVIC M. Immunité adaptative : la réponse immunitaire. Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française, 2011.

Site Internet – URL : [http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02\\_files/page82-14.-memoire-immunitaire.pdf](http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-14.-memoire-immunitaire.pdf)

(149) BATTEUX F., GARRAUD O., PRIN L., RENAUDINEAU Y., VALLAT L. Lymphocytes B : diversité, ontogénèse, différenciation et activation. Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française, 2011.

Site Internet – URL : [http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02\\_files/page82-7.-lymphocytes-b.pdf](http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-7.-lymphocytes-b.pdf)

(150) TOMA B. L'évolution des zoonoses. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 2000, 19(1) : 302-309.

(151) BEGUE P. Fiche technique : La vaccination. Comité d'éducation sanitaire et sociale de la pharmacie française, 2005.

(152) CHEVRIER T., BERGEON J.-P., LEONARD Y. Comment capturer des cervidés en montagne ? *Faune sauvage*, 2009, 285 : 16-21.

(153) GRILLO M.J., BARBERAN M., BLASCO J.M. Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs. *Veterinary Record*, 1997, 140 : 602-605.

(154) EL-TRAS W., TAYEL A., ELTHOLTH M., GUITIAN J. *Brucella* infection in fresh water fish: Evidence for natural infection of Nile catfish, *Clarias gariepinus*, with *Brucella melitensis*. *Veterinary Microbiology*, 2010, 141 : 321-325.

- (155) FERROGLIO E., GENNERO M.S., PASINO M., BERGAGNA S., DONDO A., GRATTAROLA C., RONDOLETTI M., BASSANO B. Cohabitation of a *Brucella melitensis* infected Alpine ibex (*Capra ibex*) with domestic small ruminants in an enclosure in Gran Paradiso National Park, in Western Italian Alps. *European Journal of Wildlife Research*, 2007, 53 : 158-160.
- (156) STETTLER R., TRAMPUZ A. La « deuxième vie » de la rifampicine. *Rev. Med. Suisse*, 2014, 10 : 670-672.
- (157) Anonyme(s). Centre de Référence sur les Agents Tératogènes.  
Site Internet, consulté en mars 2016. - URL : <http://lecrat.fr/>
- (158) STAHL J.P., OBERTI J., MALLARET M.R., MICOUD M., ROUX J. Étude d'une épidémie de brucellose dans une collectivité scolaire horticole. *Rev. Epidém. et Santé Publ.*, 1985, 33 : 9-12.
- (159) PIZARRO-CERDA J., MERESSE S., PARTON R.G., VAN DER GOOT G., SOLALANDA A., LOPEZ-GONI I., MORENO E., GORVEL J.P. *Brucella abortus* Transits through the Autophagic Pathway and Replicates in the Endoplasmic Reticulum of Nonprofessional Phagocytes. *Infection and Immunity*, 1998, 66(12) : 5711-5724.
- (160) SKENDROS P., BOURA P. Immunity to brucellosis. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 2013, 32(1) : 137-147.
- (161) EL IDRISSE A.H., BENKIRANE A., EL MAADOUDI M., BOUSLIKHANE M., BERRADA J., ZEROUALI A. Comparison of the efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 and *Brucella melitensis* Rev. 1 live vaccines against experimental infection with *Brucella melitensis* in pregnant ewes. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 2001, 20(3) : 741-747.
- (162) SOHN A., PROBERT W., GLASER C. *et al.* Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. *Emerg. Infect. Dis.* 2003, 9 (4) : 485-8.
- (163) MENESES A., EPAULARD O., MAURIN M., GRESSIN R., PAVESE P., BRION J.-P., GARIN-BASTUJI B., STAHL J.-P. Réactivation bactériémique d'une brucellose 70 ans après la primo-infection. *Médecine et maladies infectieuses*. 2010, 40 : 238-240.



# **Serment de Galien**



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

**D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».**

PROPHYLAXIE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE : VERS UNE  
VACCINATION CIBLÉE DE LA FAUNE SAUVAGE ?  
ÉTUDE DU CAS DES BOUQUETINS DU MASSIF DU BARGY

**Résumé :**

Touchant chaque année environ 500 000 nouvelles personnes, la brucellose (maladie à déclaration obligatoire) est une infection bactérienne protéiforme se manifestant généralement par une phase aiguë, évoluant parfois vers des complications chroniques et invalidantes. Les sources de contamination brucellique étant exclusivement animales, la prévalence humaine de cette pathologie dépend de l'ampleur de l'infection dans les élevages.

Certains pays ont mobilisé d'importantes ressources économiques pour mettre en place une surveillance sérologique et clinique de leurs cheptels, combinée à un programme de vaccination vétérinaire. Grâce à ces méthodes, depuis 2003, aucun cas de brucellose n'a été détecté dans les élevages de ruminants sur le territoire français...

Jusqu'à ce qu'en 2012, une épizootie de brucellose affectant les bouquetins du massif du Bargy (en Haute-Savoie) soit révélée suite à la transmission de *Brucella melitensis* de ces ongulés sauvages à des vaches laitières, puis à l'homme. Ce foyer de brucellose menace les élevages et la santé humaine. Sa maîtrise est donc primordiale, et pourrait nécessiter un recours à la vaccination des bouquetins.

Revue de la littérature portant sur la brucellose (modes de contamination, épidémiologie, dépistage, physiopathologie, sémiologie, traitement...), cette thèse aborde plus en détail l'épizootie du massif du Bargy en étudiant les bénéfices, les risques et les modalités d'une éventuelle campagne de vaccination des bouquetins.

À l'échelle internationale et au-delà de la brucellose, plusieurs tentatives de vaccination d'animaux sauvages sont à recenser, et nous interrogent sur la pertinence de la transposition de certaines expérimentations à la population des bouquetins du massif du Bargy.

Voie de recherche prometteuse, la vaccination de la faune peut être envisagée comme un moyen de réduire le risque de transmission de certains agents pathogènes à l'homme, et donc comme un moyen de prévenir, voire d'éradiquer, diverses maladies humaines.

**Mots clés :** Brucellose, *Brucella*, zoonose, vaccin, faune sauvage, bouquetins, *Capra ibex*, Bargy.

**Contact :** [Données à caractère personnel]