

RÉAPPARITION D'UNE MALADIE INFECTIEUSE : SOURCES ET DÉTECTION ; L'EXEMPLE DE LA BRUCELLOSE BOVINE EN FRANCE *

Bruno Garin-Bastuji¹, Séverine Rautureau², Jean Hars³, Virginie Mick¹ et Maryne Jay¹

RÉSUMÉ

La France est officiellement indemne de brucellose bovine depuis 2005. Ce statut est accordé à la condition, notamment qu'aucun cas d'avortement lié à une infection brucellique ni aucun isolement de *Brucella* n'aient été enregistrés depuis au moins trois ans et qu'au moins 99,8 % des troupeaux aient obtenu le statut officiellement indemne de brucellose chaque année, au cours des cinq dernières années. Du fait de l'absence de brucellose bovine mais aussi ovine et caprine depuis 2003 en France, il est apparu nécessaire de faire évoluer le système de surveillance. L'objectif était notamment de limiter la mise sous surveillance inutile de troupeaux, du fait de réactions non spécifiques aux tests sérologiques (RSFP), dont la valeur prédictive positive est logiquement devenue très proche de zéro avec l'éradication. Ainsi, le rythme annuel a été adopté pour le contrôle sur lait de mélange en troupeau laitier ; pour les bovins allaitants, la France a, néanmoins, préféré continuer à surveiller annuellement l'ensemble des troupeaux par sérologie annuelle, mais en ne testant que 20 % des animaux de plus de 24 mois, moins sujets que les jeunes aux RSFP ; alors que la réglementation européenne prévoit la possibilité de ne tester annuellement ces animaux que dans 20 % des troupeaux. La surveillance reste également fondée sur le dispositif essentiel que demeure la déclaration des avortements, connue comme l'outil le plus efficace pour la détection précoce de la réintroduction de l'infection brucellique dans un pays indemne.

Deux foyers de brucellose bovine ont été confirmés en 2012 sur le territoire français, alors qu'aucun cas n'avait été rapporté depuis 2003.

Le premier foyer situé dans le Nord Pas-de-Calais, dans lequel *Brucella abortus* biovar 3 a été mise en évidence, avait pour origine l'introduction d'un bovin issu d'un foyer confirmé en Belgique. Le foyer français n'a pas été identifié par le système de surveillance nationale mais par l'alerte des autorités belges faites aux autorités françaises, faisant état des ventes récentes d'animaux vers la France à partir du premier foyer identifié en Belgique. La propagation de la maladie en France est restée très limitée car l'introduction était récente. En revanche, en Belgique, 6 foyers à *B. abortus* biovar 3 ont été mis en évidence et confirmés comme en lien épidémiologique, sans que l'origine du foyer initial n'ait pu être identifiée. Tous ces foyers étaient en lien épidémiologique, le même génotype MLVA₁₆ ayant été identifié, tant pour le foyer français que pour les foyers belges.

Le second foyer français a été confirmé dans une exploitation laitière de Haute-Savoie suite à un diagnostic conduit après un avortement. Ce foyer, dû à *B. melitensis* biovar 3 a été à l'origine d'une contamination humaine par consommation de fromage frais produit dans cette ferme. Son origine exacte reste inconnue mais plusieurs pistes sont explorées.

.../..

* Texte de la conférence présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 30 mai 2013

¹ Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Unité zoonoses bactériennes, LNR des brucelloses animales, 94706 Maisons-Alfort, France

² Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, 75015 Paris, France

³ Office national de la chasse et de la faune sauvage, Unité sanitaire de la faune, 38610 Gières, France

.../..

En effet, les enquêtes menées depuis l'été 2012 n'ont fait apparaître aucun autre cheptel domestique touché alors que plusieurs cas ont été identifiés dans la faune sauvage (chamois et surtout bouquetins). Là encore, tous les cas, humain, bovins et ceux identifiés chez les animaux sauvages sont en lien épidémiologique, toutes les souches de *Brucella* isolées appartenant au même groupe génétique. Les mécanismes épidémiologiques qui ont conduit à la persistance et à la diffusion silencieuse de la maladie dans la faune sauvage de la région depuis, semble-t-il, plusieurs années, sont à l'étude. Diverses mesures sont envisagées pour limiter voire supprimer le risque de recontamination des cheptels de ruminants domestiques à partir de ce qui semble bien être un réel réservoir sauvage primaire. La maîtrise de ce risque constitue un véritable enjeu pour la santé publique et pour l'économie de cette région, spécialisée dans la production de produits au lait cru, et se heurte à deux difficultés majeures :

- celle de maîtriser un problème sanitaire grave chez une espèce sauvage protégée comme le bouquetin,
- et celle de renforcer suffisamment la surveillance chez les ruminants domestiques afin de garantir un dépistage précoce en cas de contamination d'un élevage, et, de ce fait, une meilleure maîtrise du risque de contamination humaine, sans pour autant que ce dispositif de surveillance ne vienne pénaliser la filière lait cru au plan économique.

Ces cas récents soulignent l'importance du maintien du dispositif de surveillance et d'une expertise appropriée, tant au niveau français qu'europpéen, y compris dans une situation à priori assainie, comme c'est le cas en France et en Europe centrale, septentrionale et orientale depuis plus de 10 ans.

Mots-clés : brucellose bovine, réapparition, réintroduction, résurgence, réservoir sauvage.

SUMMARY

France has been officially free from bovine brucellosis since 2005. This status implies that no case of abortion due to *Brucella* infection and no isolation of *Brucella* have been recorded for at least three years and, at least 99.8 % of herds have achieved the officially brucellosis-free status each year for five consecutive years. Due to the absence of brucellosis in cattle - as well as in sheep and goats - since 2003 in France, it appeared desirable to modify the surveillance strategy. The main objective was to limit unwarranted suspicions generated by false-positive reactions (FPSR) in serological tests; their positive predictive value has logically decreased to close to zero as a result of eradication. Therefore, the annual control of dairy herds on bulk tank milk was adopted. As far as meat cattle are concerned, EU regulations provide the possibility of testing, in 20 % of the herds, only animals over the age of 24 months, since these are less subject to FPSR than younger animals. Nevertheless, France has preferred to maintain the annual surveillance of all such bovine herds, but testing only 20 % of these animals. Surveillance remains also based on notification of abortions, regarded as the most efficient tool to early detect the reintroduction of *Brucella* infection in a free country.

Two outbreaks of bovine brucellosis were confirmed in 2012 in France, while no case had been reported since 2003.

The first outbreak, located in the Nord-Pas-de-Calais northern region of France, where *Brucella abortus* biovar 3 was identified, was due to the import of an animal issued from a Belgian confirmed outbreak. The French outbreak was not identified by the surveillance system, but through the notification by the Belgian authorities to the French counterpart of recent movements towards France of animals from the first outbreak identified in Belgium in 2012. The disease did not spread in France since the introduction was quite recent when discovered. However, in Belgium, 6 outbreaks due to the same strain were reported and confirmed as related, but the source of the index outbreak was not identified. The same MLVA₁₆ genotype was identified in all Belgian and French outbreaks.

The second French outbreak was confirmed in a mountain dairy farm in Haute-Savoie (French Northern Alps), through the notification of an abortion. A human case connected to this outbreak had been identified a few weeks before. It was later confirmed as due to the consumption of fresh cheese produced in the same farm.

.../..

.../..

The origin of this bovine outbreak remains unexplained since all investigations carried out in all domestic ruminants of the mountain range were negative. However, investigations performed in local wild ruminants during fall 2012 evidenced the presence of the *Brucella* infection in two wild species (one case in Chamois [*Rupicapra rupicapra*] and several cases in Alpine ibex [*Capra ibex*]). Again, the strains isolated from the human case, that from cattle, as well as those from Chamois and Ibex all belonged to the same species and biovar (*B. melitensis* biovar 3) as well as to the same MLVA₁₆ cluster. The epidemiological mechanisms that allowed the silent persistence and spread of the disease in the local wildlife, presumably over the 10 previous years, –(*the last domestic outbreak in the area occurred in 1999*) are still under study. Several measures are being considered to limit or eradicate the risk of contamination of domestic herds from what seems to be a real primary wild reservoir. The control of this risk is a real challenge for public health and for the local economy, based in part on production of raw milk cheese. Two major difficulties are anticipated:

- How to control a severe sanitary problem in a protected wild species like the Ibex in an open mountain area,
- How to reinforce the surveillance of domestic ruminants in order to early detect infection, and prevent human contamination, without damaging the raw-milk cheese economy.

These two recent cases highlight the importance of maintaining appropriate surveillance and expertise, in France as well as in the EU, even when eradication has been reached, as this was the case in France and in Eastern, Central and Northern Europe for over 10 years.

Keywords: Bovine brucellosis, Re-occurrence, Re-introduction, Resurgence, Wildlife reservoir.



I - BRUCELLOSE DES RUMINANTS EN FRANCE. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE - MODALITÉS DE SURVEILLANCE

Les derniers foyers déclarés en France de brucellose bovine datent de 2003 (figure 1). Ainsi, la France a pu obtenir en 2005, de la part de la Commission Européenne, le statut d'état membre officiellement indemne de brucellose bovine [Fediaevsky *et al.*, 2011a ; Rautureau *et al.*, 2012a ; Dufour *et al.*, 2013].

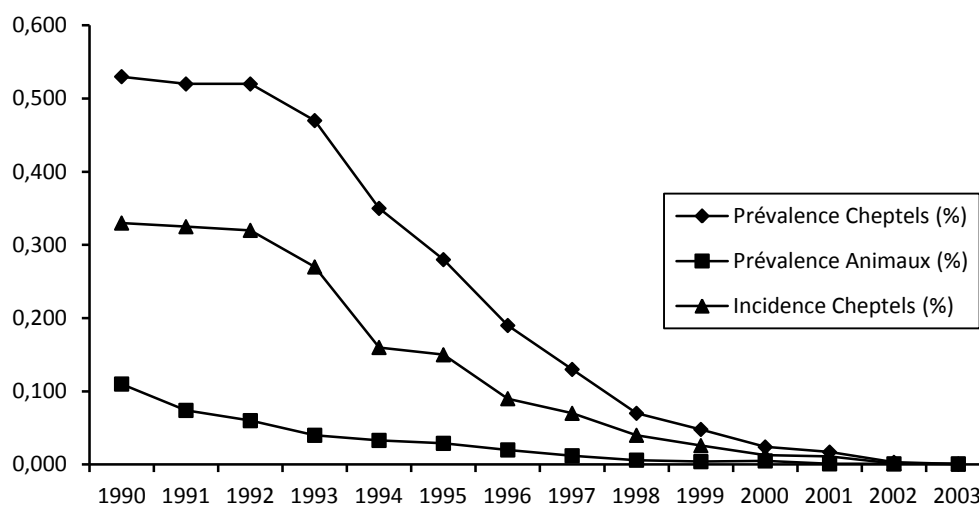
Du fait de l'absence de brucellose bovine mais aussi ovine et caprine depuis 2003 en France, il est apparu nécessaire de faire évoluer le système de surveillance [Fediaevsky *et al.*, 2011b ; Rautureau *et al.*, 2012b]. L'objectif était notamment de limiter la mise sous surveillance inutile de troupeaux du fait de réactions non spécifiques aux tests sérologiques (RSFP), dont la valeur prédictive positive est logiquement devenue très proche de zéro avec l'éradication. La France a néanmoins préféré continuer à surveiller annuellement

l'ensemble des troupeaux bovins, en ne testant pour les troupeaux allaitants, que 20 % des animaux de plus de 24 mois, moins sujets que les jeunes aux RSFP, alors que la réglementation européenne prévoit la possibilité de ne tester annuellement ces animaux que dans 20 % des troupeaux. Les troupeaux laitiers font l'objet, quant à eux, conformément à la réglementation européenne soit du même régime, soit, pour la plupart, d'un seul dépistage annuel sur lait de mélange, par ELISA indirect.

La surveillance reste également fondée sur le dispositif essentiel que demeure la déclaration des avortements, connue comme l'outil le plus efficace pour la détection précoce de la réintroduction de l'infection brucellique dans un pays indemne [England *et al.*, 2004].

Figure 1

Évolution de la brucellose bovine en France de 1990 à 2003



Pour les petits ruminants, les derniers foyers ont également été identifiés en 2003 (figures 2 et 3). Les trois dernières années (2001-2003) ont compté respectivement 58, 29 et 19 foyers confirmés. Le maintien d'une prophylaxie médico-sanitaire en zone à risque jusqu'en 2008 a retardé l'obtention du statut officiellement indemne, laquelle devrait être rendue possible à partir de fin 2013. La prophylaxie obligatoire est effectuée à un rythme variable en fonction des départements et du type d'élevage, les cheptels d'engraissement pouvant y déroger à certaines conditions. La réglementation en vigueur depuis 1998 prévoit un rythme de dépistage toujours annuel pour les cheptels

caprins, les cheptels ovins producteurs de lait cru et les cheptels ovins transhumants dans certains départements. Le dépistage est également annuel pour les troupeaux mixtes dans les départements où la vaccination a cessé tardivement. Dans les autres départements, le rythme de dépistage peut être allégé en fonction du taux de prévalence. Toutefois les départements ont également la possibilité de maintenir un rythme de dépistage plus soutenu. Une nouvelle réglementation visant à harmoniser les mesures de surveillance au plan national et à aligner la stratégie sur celle suivie pour les bovins devrait paraître avant la fin 2013 [Dufour *et al.*, 2013].

Figure 2

Évolution de la brucellose ovine en France de 1990 à 2000

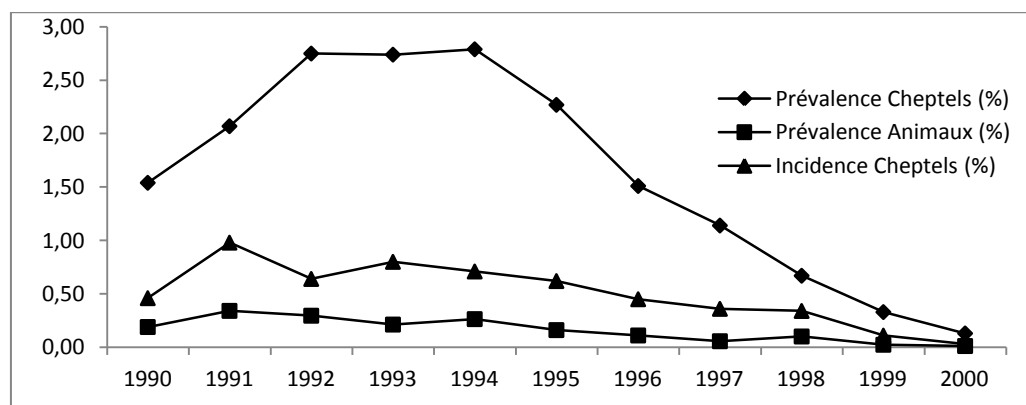
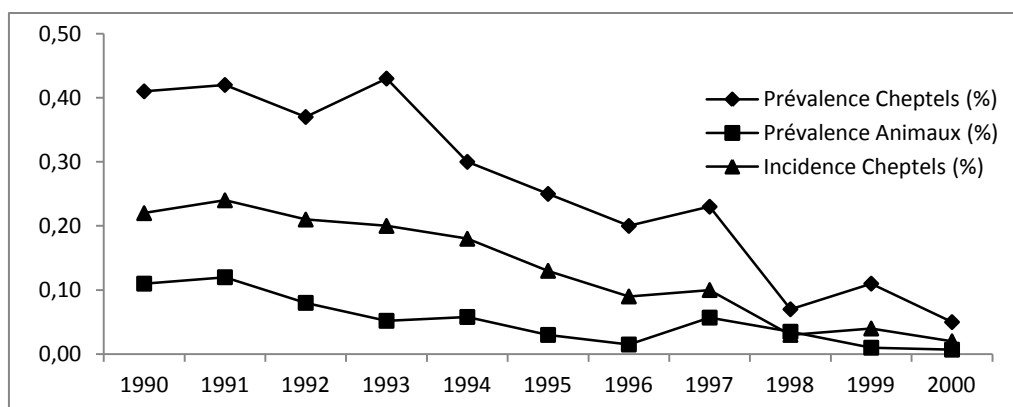


Figure 3

Évolution de la brucellose caprine en France de 1990 à 2000



Dans le reste de l'Union Européenne, la situation s'est également améliorée significativement depuis les années 2000. Outre l'Irlande du Nord, qui n'a connu que 4 foyers de brucellose bovine en 2011, les 4 pays de l'UE encore touchés par la brucellose bovine, ovine et caprine sont la Grèce (prévalence cheptels en 2011, bovins 0,9 % ; ovins-caprins : 0,2 %), l'Espagne (bovins 0,1 % ; ovins-caprins : 0,5 %), l'Italie (bovins 0,8 % ; ovins-caprins : 0,8 %) et le Portugal (bovins 0,4 % ; ovins-caprins : 1,3 %). La distribution de l'infection dans ces pays est hétérogène, et pour ce qui concerne les pays

frontaliers de la France, Espagne et Italie, leurs zones frontalières de la France sont indemnes depuis plusieurs années déjà [EFSA/ECDC, 2013 (cf. figures BR4, p. 140 et BR9 p. 146)].

La brucellose humaine est, quant à elle, en France, devenue depuis une dizaine d'années, une maladie essentiellement exotique (cas importés) hormis de rares cas de rechute chez des patients exposés avant 2003 ou de personnels de laboratoire contaminés lors de la manipulation de souches de patients [Mailles *et al.*, 2012]

II - PREMIER FOYER DE BRUCELLOSE BOVINE EN 2012 DANS LE PAS-DE-CALAIS

Le premier cas français, localisé dans le Nord-Pas-de-Calais, était dû à *Brucella abortus* biovar 3, et a concerné l'exploitation d'un négociant, comprenant un cheptel d'engraissement et un cheptel d'élevage, pour un total de 1188 animaux. Confirmé en mars 2012, il résultait de l'introduction récente d'un animal issu du premier foyer belge confirmé en février 2012. Il a été découvert à l'occasion des enquêtes épidémiologiques conduites suite à la confirmation du premier foyer belge de 2012 [Bronner *et al.*, 2013b]. Les autorités belges avaient alors informé immédiatement les autorités françaises de quatre mouvements à partir de ce foyer vers 2 exploitations françaises entre mars 2011 et mars

2012. La première exploitation, située en Seine-Maritime, a pu être requalifiée rapidement (2 tests exhaustifs négatifs à 6 semaines d'intervalle, une fois l'ensemble des animaux introduits éliminés). Dans la seconde exploitation, un des 5 animaux introduits n'avait pas encore été abattu et s'est avéré séropositif (EAT & FC⁴) à la mi-mars. Abattu le 28 mars, cette femelle adulte a fait l'objet de prélèvements qui ont permis au LNR de confirmer l'infection brucellique par PCR le 30 mars, isolement de *Brucella* le 2 avril et confirmation de *B. abortus* biovar 3 le 10 avril, soit moins d'un mois après l'introduction des animaux à risque dans le cheptel.

⁴ EAT : épreuve à l'antigène tamponné (ou rose bengale) ; FC : fixation du complément ; iELISA : ELISA indirect.

Dès le 13 avril, 114 animaux du même lot ont pu être testés en sérologie, avec résultats négatifs (EAT, FC et iELISA¹), suggérant l'absence de diffusion de l'infection à d'autres animaux du cheptel, hypothèse corroborée par l'absence de détection de *Brucella* dans le tractus génital de l'animal (tableau 1).

La confirmation de la maladie, qui n'avait pas encore progressé dans l'élevage, a conduit à l'abattage de l'intégralité des troupeaux bovins du site d'élevage fin mai 2012. Des investigations ont été entreprises dans les exploitations en lien épidémiologique. Aucun autre élevage infecté en lien n'a été découvert.

Tableau 1
Résultats des analyses bactériologiques et PCR mises en œuvre sur l'animal belge introduit dans le foyer du Pas-de-Calais en 2012

Prélèvement	Résultats Anses	
	PCR*	Bactériologie**
Rate	-	négatif****
Foie	douteux***	positif
Parotide	-	négatif
Mamelle	+	positif
Lait (crème)	++	positif
Lait (culot)	++	positif
NL Inguinal 1	-	positif
NL Inguinal 2	douteux***	négatif
NL Rétro-Mammaire 1	+	positif
NL Rétro-Mammaire 2	+	positif
NL Pré-scapulaire 1	-	positif
NL Pré-scapulaire 2	-	positif
NL Rétro-pharyngien 1	+	positif
NL Rétro-pharyngien 2	+	positif
NL Mandibulaire 1	+	positif
NL Mandibulaire 2	+	positif
Ecouvillon cervical 1	-	négatif
Ecouvillon cervical 2	-	négatif
Raclage utérin	-	négatif

* PCR spécifique du genre *Brucella* (3 cibles *IS711*, *bcsp31* et *per*) [Bounaadja *et al.*, 2009]

** Recherche de *Brucella* par culture (AFNOR U47-105)

*** Résultat positif sur 1 ou 2 des 3 cibles seulement

**** Recherche négative après 10 jours de culture

Ce foyer correspond donc non pas à une réémergence mais à une réintroduction. Sa résolution rapide démontre à la fois l'efficacité de la circulation de l'information sanitaire au sein de l'UE (entre la Belgique et la France, tout du moins) et l'efficacité des mesures mises en œuvre, qui, par

leur rapidité, ont prévenu l'extension du foyer au sein de cet important élevage (plate-forme commerciale) et à d'autres cheptels. L'absence d'identification de la source des foyers qui se sont succédé en Belgique en 2010 [Garin-Bastuji et Fediaevsky, 2011] et 2011-2013 [Bronner *et al.*,

2013b] laissent ouverte, malgré les nombreuses investigations entreprises par les services vétérinaires belges, la question d'une source

résiduelle d'infection dans ce pays, avec lequel la France connaît de nombreux échanges commerciaux d'animaux vivants.

III - SECOND FOYER DE BRUCELLOSE BOVINE EN 2012 EN HAUTE-SAVOIE

Le second foyer bovin a été confirmé en avril 2012 en Haute-Savoie dans un élevage laitier producteur de fromage au lait cru et comprenant 21 femelles en production en stabulation entravée, située à plus de 1500 m d'altitude (Massif du Bargy).

Une vache, âgée de 9 ans a avorté à 7 mois de gestation en janvier 2012. Seul le sang a été prélevé et la sérologie s'est révélée positive (EAT et FC¹). Le contrôle suivant à 6 semaines a donné le même résultat, ce qui a conduit la direction départementale de la protection des populations (DDPP) à demander une recherche par culture sur le lait de l'animal, laquelle a conduit à l'isolement de *B. melitensis* bv. 3 en avril 2012.

Un cas humain autochtone avait été confirmé dans le département en janvier sans que l'origine ait été identifiée, ce qui a conduit l'InVS à relancer l'enquête épidémiologique autour de ce cas, lequel s'est finalement avéré avoir consommé un fromage frais issue de cette exploitation en octobre 2011 [Mailles *et al.*, 2012]. L'infection du troupeau remonte donc à une date antérieure.

Dès la confirmation du foyer, un groupe de travail associant DGAI, DDPP74 et ANSES (Lyon/Alfort) a été mis en place sans délai. La DDPP a entrepris un contrôle de l'ensemble des 39 cheptels reliés épidémiologiquement (voisinage, amont/aval), y compris dans d'autres départements où cet élevage transférait régulièrement ses génisses, lequel a donné des résultats entièrement négatifs. De même, tous les autres animaux du cheptel ont présenté des résultats négatifs aux épreuves sérologiques (EAT, FC et iELISA¹). Le cheptel a été abattu en totalité et tous les animaux ont fait l'objet de prélèvements de 3 paires de nœuds lymphatiques (NL : rétro-pharyngiens, rétro-mammaires et iliaques internes) soumis à PCR et culture pour recherche de *Brucella*. Outre l'animal infecté (culture positive sur lait, mucus utérin et 3 paires de NL), un second animal s'est avéré positif en culture (3 paires de NL) et quatre autres animaux ont présenté un résultat positif en PCR sur au moins un NL.

Plusieurs questions ont alors été soulevées.

- En l'absence de diffusion massive au reste du cheptel, sur au moins 3 mois, malgré un avortement et une configuration propice (promiscuité importante dans une petite stabulation entravée), peut-on envisager que l'avortement n'était finalement pas brucellique ? Si des *Brucella* ont pu être isolées du mucus utérin en avril, leur excrétion génitale au moment de l'avortement en janvier n'est pas démontrée.
- La présence d'autres animaux infectés par *Brucella* (1 culture+) ou exposés (4 PCR +) n'est-elle pas davantage liée à la consommation régulière par les animaux du lactosérum contaminé, sous-produit de la fabrication quotidienne de fromage au lait cru que le signe d'une identification précoce de la contamination chez ces animaux ?
- Quid des animaux réformés en 2011 et n'ayant pas été inclus dans l'échantillon du dépistage de prophylaxie du printemps 2011 (seules 10 vaches ont alors été testées).
- Peut-on envisager une origine domestique autochtone ? Le dernier cas de brucellose chez petits ou grands ruminants en France remontant à 2003, l'hypothèse d'une contamination autochtone à partir d'un réservoir chez les ruminants domestiques semble peu probable. D'autre part, le foyer n'a pas introduit d'animaux provenant d'autres pays qui auraient pu être infectés. Des recherches ont été menées dans les élevages voisins et dans les élevages ayant vendu des animaux à la ferme touchée, sans qu'aucun contact à risque n'ait pu être mis en évidence.
- Peut-on envisager l'hypothèse d'une brucellose congénitale chez un animal issu d'un bovin ayant été infecté avant le dernier foyer identifié sur la zone en 1999 ? Plusieurs vaches, très bonnes productrices, étaient âgées d'une dizaine d'années dans ce cheptel, et étaient, pour un certain nombre, nées dans la région (parmi elles, le cas « index » ainsi que plusieurs autres animaux réformés entre novembre 2011

et avril 2012). Certaines de ces vaches auraient pu être contaminées de façon congénitale par leurs mères, elles-mêmes nées avant le dernier foyer connu dans la région (1999). Ceci impliquerait qu'une ou plusieurs mères n'aient pas été détectées à l'époque. Un (ou plusieurs) de leurs produits aurai(en)t ainsi connu une réactivation très tardive de l'infection en étant resté(s) séronégatif(s) jusque-là. Comment alors expliquer l'absence totale de réactions sérologiques lors des surveillances annuelles qui ont concerné l'ensemble de l'effectif adulte jusqu'à 2006 au moins et une partie de cet effectif depuis.

- Il est ainsi impossible de dater plus précisément l'introduction de l'infection dans le cheptel. La faible contagiosité intra-troupeau ne permet pas d'exclure l'existence d'une brucellose évolutive silencieuse dans le cheptel avant l'automne 2011, mais il paraît peu probable qu'elle soit passée inaperçue lors de la prophylaxie, la ou les saisons précédentes. Plusieurs éléments laissent à penser que la maladie est restée à un stade primaire, ce qui pourrait être en faveur d'une « activation » récente.
- La faune sauvage peut-elle être en cause ? Cette hypothèse paraissait alors très peu vraisemblable, compte tenu des expériences passées en France, en Espagne et en Italie, qui suggéraient que, si la brucellose pouvait atteindre les ruminants de montagne, chamois et bouquetins notamment, le plus souvent sur un mode sporadique, l'infection disparaissait naturellement des populations sauvages dès lors qu'elle était éradiquée des troupeaux domestiques locaux [Garin-Bastuji *et al.*, 1990 ; Gauthier *et al.*, 1998 ; Ferroglio *et al.*, 2007 ; Muñoz *et al.*, 2010 ; Godfroid *et al.*, 2013].

De manière à poursuivre les investigations sur l'origine de ce foyer et de vérifier l'absence d'extension de l'infection, diverses mesures ont été prises :

- Une re-sensibilisation à la déclaration des avortements, de manière à augmenter la probabilité de détection d'un foyer non encore identifié ;

- Une gestion renforcée des suspicions sérologiques avec abattage diagnostique systématique (et blocage parallèle des fromages produits) ;
- La mise en place d'un dépistage exhaustif au retour d'estive à l'automne 2012.

Les deux dernières mesures n'avaient, à l'entrée de l'hiver 2012, permis l'identification d'aucun autre cas d'infection brucellique chez les ruminants domestiques de la zone, ce qui a été confirmé lors de la prophylaxie mise en œuvre sur l'hiver-printemps 2012-2013, tant chez les bovins que les petits ruminants.

Dans le même temps, un programme de surveillance du grand gibier local a été mis en place par l'ONCFS⁵. Ce programme était fondé sur le contrôle lésionnel et sérologique des chamois, cerfs et chevreuils abattus à la chasse dans la zone « à risque », la surveillance clinique (par détection à distance d'arthrites brucelliques) et la capture aléatoire d'une centaine de bouquetins (espèce protégée en France) pour analyses sérologiques et bactériologiques.

Sur la première tranche de ce programme (automne-hiver 2012-2013), outre un unique chamois, quatre bouquetins présentant des signes cliniques (arthrite, orchite, mammite) ont été retrouvés infectés. Douze des 24 bouquetins capturés et ayant fait l'objet d'une sérologie ont été retrouvés séropositifs. Parmi 11 de ces 12 animaux qui ont pu être soumis à des examens bactériologiques (1 animal mort dans une avalanche), 5 ont été concernés par un isolement de *Brucella*, et parmi les 6 autres, 3 ont donné un résultat positif en PCR sur au moins un nœud lymphatique. Selon les animaux, les *Brucella* ont pu être isolées des nœuds lymphatiques, de liquide d'arthrite, de la rate, des testicules ou de l'utérus, de la mamelle, d'écouvillonnages prépuceux ou vaginaux, de l'urine et même d'un abcès sous-cutané.

Si l'infection présentait une forme chronique ou subaiguë chez certains individus (orchite, arthrite), chez certains animaux, l'isolement à partir de certains prélèvements (urine, prépuce, vagin, mamelle, etc.) démontrait clairement une capacité d'excrétion de *Brucella* dans l'environnement.

⁵ Ce sujet est traité par Jean Hars *et al.* dans ce numéro de la revue.

Par ailleurs, chez les autres chamois (54), les cerfs (30) et les chevreuils (44) investigués, aucun animal ne s'est révélé séropositif ni atteint de forme clinique évidente de brucellose.

Une étude génotypique (MLVA) a, en complément, été menée sur les souches isolées du cas humain, des bovins du foyer, du chamois et des bouquetins trouvés infectés en 2012 [Al Dahouk *et al.*, 2007]. Ces souches ont été comparées à une soixantaine de souches isolées de 1990 à 2012 dans le sud-est de la France à partir de foyers domestiques, de chamois infectés et d'un cas chez le bouquetin en Italie et présentes dans la collection du LNR. Très clairement, une identité parfaite a été obtenue entre les souches bovines et humaine de 2012. Plusieurs clones, apparemment géographiques, ont été identifiés. Un seul et même clone inclut les souches bovines et humaine de 2012, celles du chamois et des bouquetins isolées en 2012 mais aussi celles issues de foyers plus anciens de la région, dont celle du dernier foyer sur le massif en 1999.

Il est ainsi très vraisemblable que le bouquetin soit le chaînon manquant entre les derniers foyers de brucellose des ruminants domestiques sur la zone (peut-être le dernier foyer de 1999, peut-être un foyer précédent) et le foyer identifié en 2012. Cette espèce a sans doute constitué un réel réservoir primaire de l'infection, passé totalement inaperçu pendant au moins 13 ans.

Ce foyer correspond donc, à l'inverse du premier cas, à une réelle réémergence d'une infection ancienne. Cette réémergence est le plus vraisemblablement liée à l'existence insoupçonnée (et jamais décrite jusqu'à présent) d'un réservoir sauvage de *B. melitensis*. La coexistence, dans la population locale de bouquetins, de formes chroniques ou subaiguës de brucellose chez certains individus, avec des formes plus aiguës, semble-t-il, chez d'autres individus, avec une excrétion effective de *Brucella* dans l'environnement, le tout dans un contexte de forte prévalence (près de la moitié des animaux testés sont séropositifs) soulève diverses questions.

- Cette situation dure-t-elle depuis plus de 13 ans sans qu'on l'ait identifiée, ne serait-ce que par la contamination de cheptels domestiques, ou

bien l'infection existe-t-elle depuis fort longtemps sous forme sporadique et a-t-elle connu une évolution plus récente à forme « épidémique », qui expliquerait la transmission à un cheptel bovin en 2011 ? La transmission sauvage-domestique n'est, quoi qu'il en soit, pas si aisée que cela, semble-t-il.

- Que faire pour éviter de nouvelles transmissions à un cheptel domestique dont la production est essentiellement axée sur la fabrication de fromages au lait cru, avec, à la clé, un risque de santé publique et un risque économique lié au blocage potentiel de tonnages importants de fromages ?
- La surveillance renforcée des élevages doit très certainement être maintenue, mais est-ce viable à long terme ? Le recours à certains outils complémentaires (dépistage régulier sur lait de mélange, épreuve cutanée allergique à la brucelline) doivent, en tout cas, permettre d'améliorer le dispositif et de réduire les blocages de cheptels et de fromages liés aux suspicions.
- Le renforcement de la biosécurité des élevages est possible, notamment par le retrait des pierres à sel et autres dispositifs alimentaires contribuant à attirer les ruminants sauvages auprès des cheptels domestiques. Mais limiter les contacts entre animaux sauvages et cheptels domestiques en zone de haute montagne n'est pas aisée ni faisable à grande échelle et sur le long terme.

Toute stratégie visant, si ce n'est à l'éradication du réservoir sauvage, du moins à la réduction du risque qu'il peut représenter pour le cheptel domestique, devra, c'est probable, passer par une amélioration des connaissances sur la distribution des populations sauvages sur le massif, les zones et les périodes privilégiées de contact avec le cheptel domestique, de même que par une estimation plus précise de la prévalence dans toutes les classes d'âge (dynamique de l'infection) sur le Massif comme dans les massifs adjacents (où pour l'instant il n'est pas possible d'écarter que l'infection soit déjà présente). C'est l'objet de la seconde tranche du programme de surveillance menée en 2013 (analyses en cours).

IV - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les deux foyers inattendus de brucellose bovine survenus en 2012 ont remis en cause les certitudes, qui avaient fini par gagner nombre d'acteurs, sur l'aspect définitivement exotique de cette maladie en France. Rien, en effet, et notamment aucun cas de brucellose humaine autochtone, ne permettait d'entrevoir ce risque.

La réémergence de l'infection bovine chez nos voisins belges en 2010 puis 2012-2013, a nécessité de nombreuses enquêtes approfondies pour être stoppée (au terme de 6 foyers reliés), sans que la source ait pu en être identifiée [Bronner *et al.*, 2013b]. Par contre, c'est sans doute uniquement le premier foyer belge de 2012 qui a été à l'origine des 5 autres foyers de la période 2012-2013, de même que du foyer français dans le Pas-de-Calais. Dans ce dernier cas, l'information et les mesures prises ont été très rapides, ce qui a permis d'éviter une dissémination sur le territoire français. Quoi qu'il en soit, ces événements démontrent que nul pays indemne, y compris de longue date n'est à l'abri d'une réintroduction de brucellose et que les conséquences d'une telle réintroduction sont largement dépendantes des capacités de réaction des autorités des pays concernés.

Les questions posées par le second foyer, sont tout autres. On doit tout d'abord souligner l'efficacité du dispositif mis en place qui a permis grâce à toutes les institutions parties prenantes⁶, de confirmer le foyer bovin, de le relier au cas humain et d'identifier le réservoir sauvage, tout en garantissant l'absence d'extension au reste du cheptel domestique local et national. Néanmoins, il a fallu plusieurs semaines pour confirmer le foyer bovin, car l'animal ayant avorté n'avait pas fait l'objet, avant traitement, des prélèvements requis pour la recherche bactériologique.

Rappelons ici que la déclaration et l'investigation des avortements restent un des outils les plus efficaces pour la détection précoce de la réintroduction de l'infection brucellique dans un pays indemne [England *et al.*, 2004]. Le dispositif

actuel de déclarations des avortements en France présente un défaut avéré de sensibilité. Les réflexions actuelles en la matière visent à cet égard à améliorer ce dispositif, et les acteurs locaux (DDPP, éleveurs et vétérinaires) doivent être davantage conscients de l'importance que revêt cet outil pour la surveillance sanitaire bovine [Bronner *et al.*, 2013a].

La découverte d'un réservoir sauvage était d'autant moins prévisible que jamais un tel réservoir de *B. melitensis* dans la faune sauvage n'avait été rapporté ; d'autant plus pour la faune de montagne, pour laquelle toutes les enquêtes précédentes sur d'autres massifs avaient conclu à la disparition naturelle de l'infection en l'absence de source domestique. Il n'est pas envisageable de mettre en place une surveillance active de la faune sauvage pour toutes les maladies d'importance en santé animale. Néanmoins, les expériences récentes⁵ démontrent combien l'existence d'une expérience effective et d'une expertise maintenue dans ce domaine, dans d'autres espèces ou sur d'autres pathogènes, a contribué à la mobilisation rapide des acteurs et à la mise en place tout aussi rapide d'enquêtes appropriées, permettant d'identifier avec précision la situation et de proposer des pistes d'actions.

En tout état cause, une éradication ne peut être effective que dès lors :

- qu'un dispositif de surveillance efficace est en place et correctement mis en œuvre,
- que les facteurs de risque de réintroduction ou de résurgence sont maîtrisés.

Ces cas récents soulignent, en tout cas, l'importance du maintien du dispositif de surveillance et d'une expertise appropriés, tant au niveau français qu'europpéen, y compris dans une situation à priori assainie, comme c'est le cas en France et en Europe centrale, septentrionale et orientale depuis plus de 10 ans.

⁶ DDPP74, DDT74, ONCFS, FNC et FDC74, LVD 73 et 74, InVS, DGAL et ANSES

BIBLIOGRAPHIE

- Al Dahouk S., Le Flèche P., Nöckler K., Jacques I., Grayon M., Scholz H.C., Tomaso H., Vergnaud G., Neubauer H. - Evaluation of *Brucella* MLVA typing for human brucellosis. *J. Microbiol. Meth.*, 2007, **69**,137-145.
- Bounaadja L., Albert D., Chénais B., Hénault S., Zygmunt M.S., Poliak S., Garin-Bastuji B. - Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of IS711, bcsp31 and per target genes. *Vet. Microbiol.*, 2009, **137**, 156-164.
- Bronner A., Hénaux V., Fortané N., Calavas D. - Identification des facteurs influençant la déclaration des avortements chez les bovins par les éleveurs et les vétérinaires. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Alim.*, 2013a, **57**, 5-8.
- Bronner A., Rautureau S., Jaÿ M., Garin-Bastuji B. - Un nouveau foyer de brucellose bovine identifié début 2013 en Belgique. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Alim.*, 2013b, **57**, 9.
- Dufour B., Garin-Bastuji B., Rautureau S. - La brucellose : Actualités sanitaires et réglementaires. *Point Vét.*, 2013, **332**, 46-50.
- EFSA/ECDC, 2012. Scientific report of EFSA and ECDC. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. *EFSA Journal*, 2013, **11**(4), 3129. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3129.htm>
- England T., Kelly L., Jones R., MacMillan A., Wooldridge M. - A simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing regimes. *Prev. Vet. Med.*, 2004, **63**, 63-73.
- Fediaevsky A., Dufour B., Garin-Bastuji B. - Maintenir la vigilance contre la brucellose bovine en France en 2010. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Alim.*, 2011a, **46**, 10-14.
- Fediaevsky A., Garin-Bastuji B., Dufour B. - Aucun foyer de brucellose ovine et caprine détecté en France en 2010. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Alim.*, 2011b, **46**, 32-35.
- 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. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2007, **53**, 158-160.
- 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. *J. Wildl. Dis.*, 1990, **26**, 116-118.
- Garin-Bastuji B., Fediaevsky A. - Un foyer de brucellose bovine en Belgique ou l'importance de la surveillance en territoire officiellement indemne. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Alim.*, 2011, **42**,10.
- Gauthier D., Hars J., Rossi L. - Brucellosis in free ranging chamois (*Rupicapra rupicapra*) and its relationships with domestic breeding. Third Conference of the European Wildlife Diseases Association, Edinbourg, Royaume Uni, 1998.
- Godfroid J., Garin-Bastuji B., Saegerman C., Blasco J.M. - Brucellosis in terrestrial wildlife. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2013, **32**(1), 27-42.
- Hars J., Garin-Bastuji B. - La brucellose dans la faune sauvage française. *Point Vét.*, 2013, **332**, 52-53.
- Mailles A., Rautureau S., Le Horgne J.M., Poignet-Leroux B., d'Arnoux C., Denetière 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. *Euro Surveill.*, 2012, **26**, 17(30).
- Muñoz P.M., Boadella M., Arnal M., de Miguel M.J., Revilla M., Martinez D., Vicente J., Acevedo P., Oleaga A., Ruiz-Fons F., Marín C.M., Prieto J.M., de la Fuente J., Barral M., Barberán M., Fernández de Luco D., Blasco J.M., Gortázar C. - Spatial distribution and risk factors of Brucellosis in Iberian wild ungulates. *BMC Infect. Dis.*, 2010, **10**, 46.

Rautureau S., Dufour B., Garin-Bastuji B. -
Maintenir la vigilance contre la brucellose
bovine en France en 2011. *Bull. Épidémiol.
Santé Anim. Alim.*, 2012a, 54, 13-15.

Rautureau S., Garin-Bastuji B., Dufour B. - Aucun
foyer de brucellose ovine et caprine détecté en
France en 2011. *Bull. Épidémiol. Santé Anim.
Alim.*, 2012b, 54, 16-19.



Remerciements :

Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement tous les acteurs sans qui cet article n'aurait pas été possible :

Les Directions Départementales de la Protection des Populations du Pas de Calais et de Haute-Savoie, Jean-Marie Le Horgne et Eric Da Silva, notamment ;

La Direction Départementale des Territoires de Haute-Savoie ;

Le Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires de Savoie, Yvette Game notamment ;

Le Laboratoire Vétérinaire départemental de Haute-Savoie, Eric Maucci notamment ;

La Fédération Départementale des Chasseurs de Haute-Savoie

L'Unité Zoonoses Bactériennes de l'Anses de Maisons-Alfort, Moulay-Ali Cherfa, Yannick Corde, Antoine Drapeau, Gilles Le Carrou et Gabriela Vecchio, notamment ;

Le service départemental de l'ONCFS de Haute-Savoie ;

La Direction générale de l'Alimentation (sous-direction santé et protection animales), qui a financé une large part des travaux mis en œuvre autour des deux foyers.