

HÉTÉROGÉNÉITÉ DE L'EXCRÉTION DE *BRUCELLA MELITENSIS* CHEZ LES BOUQUETINS*

Gilot-Fromont Emmanuelle^{1,2}, Freycon Pauline², Rossi Sophie³, Thébault Anne⁴, Game Yvette⁵,
Toïgo Carole⁶, Petit Elodie³, Barthe Marie-Noëlle⁵, Reynaud Gaël⁵, Jaÿ Maryne⁷,
Garin-Bastuji Bruno⁷, Ponsart Claire⁷, Hars Jean⁸ et Lambert Sébastien¹



RÉSUMÉ

La dynamique de transmission de la brucellose du bouquetin était pour l'essentiel inconnue en 2012. La découverte du réservoir constitué par la population de bouquetins du massif du Bargy a soulevé la nécessité d'identifier les facteurs qui permettent la persistance de l'infection à un fort niveau de prévalence dans cette population. Pour identifier les modes et voies de transmission ainsi que les classes d'animaux les plus susceptibles de constituer des sources de bactéries, 88 bouquetins séropositifs ont été autopsiés entre 2012 et 2017. Des recherches bactériologiques ont été menées sur 1 à 15 organes pour chaque animal. La bactérie a été détectée chez 51 (58 %) des animaux autopsiés, et chez 45 animaux elle était détectée dans au moins un échantillon du tractus urogénital ou un nœud lymphatique de la région pelvienne, ces animaux étant donc excréteurs potentiels. Parmi ces excréteurs potentiels, 26 (58 %, soit 30 % de tous les animaux autopsiés) avaient au moins une culture positive dans un organe du système urogénital et ont donc été considérés comme excréteur effectivement la bactérie au moment de la capture. Une hétérogénéité était présente entre les classes d'âge et de sexe : la bactérie était plus souvent détectée chez les animaux séropositifs avant l'âge de 5 ans, possiblement en lien avec une infection primaire, impliquant un avortement possible à la première gestation chez les femelles, tel qu'il est connu chez les ruminants domestiques. Enfin, l'excrétion bactérienne était liée à la réponse sérologique chez les femelles, suggérant que cette réponse pourrait permettre d'identifier les femelles présentant un risque plus élevé d'excrétion. Le fort potentiel d'excrétion chez les femelles jeunes peut avoir contribué au maintien de l'infection à long terme dans cette population. Les mâles et les femelles pourraient donc jouer des rôles épidémiologiques distincts, les femelles contribuant à la pérennisation de l'infection dans un secteur et les mâles à la transmission entre secteurs. Cette hétérogénéité doit être prise en compte pour évaluer des scénarios de gestion, dans cette situation comme dans d'autres cas.

Mots-clés : *Brucella melitensis*, bactériologie, sérologie, transmission.

.../..

* Texte de la conférence présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA, 30 mai 2018

¹ Université de Lyon1, UMR CNRS 5558 Laboratoire de biométrie et biologie évolutive (LBBE), 69100 Villeurbanne, France

² Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus vétérinaire de Lyon, 69280 Marcy l'Étoile, France

³ ONCFS, Unité sanitaire de la faune, 05000 Gap, France

⁴ ANSES-Département de l'évaluation des risques, 9470 Maisons-Alfort, France

⁵ Laboratoire départemental d'analyses vétérinaires de Savoie, 73000 Chambéry, France

⁶ ONCFS, Unité Faune de montagne, 38610 Gières, France

⁷ ANSES/Université Paris-Est, Laboratoire de santé animale, Laboratoire de référence national, européen, OIE et FAO pour les brucelloses animales, 94700 Maisons-Alfort, France

⁸ ONCFS, Unité sanitaire de la faune, 38610 Gières, France

.../..

ABSTRACT

The transmission' dynamics of Brucella melitensis in the alpine ibex was mostly unknown in 2012. The discovery of a reservoir in the population of the Bargy massif raised the need to identify the factors that allowed the persistence of infection at a high level in this population. In order to determine the transmission routes and to identify which classes of individuals were more at risk to excrete bacteria, we necropsied 88 seropositive ibexes between 2012 and 2017. Bacteriological cultures were undertaken in 1 to 15 samples for each individual. The bacteria was detected in 51 (58%) of the necropsied ibexes. In 45 individuals, the bacteria was detected, at least, in one sample issued from the genital tract or a lymph node from the pelvic area, thus these individuals were potentially at risk of excreting the bacteria in the future. Among these, 26 (58%, or 30% of all necropsied animals) had at least one positive culture from an organ of the urogenital sphere and were thus considered as actually at risk of excreting the bacteria at the time of capture. The bacteriological results were heterogeneous among age and sex classes: the bacteria was most often detected in seropositive females aged less than five years old. This was possibly due to a primary infection that would include a possible abortion event during the first pregnancy, as it is described in domestic ruminants. Moreover, the bacteriological result was related to the serological response in females, suggesting that the serological response may help identify females having a high risk of excretion. The high shedding potential in young females may have contributed to the long-term maintenance of infection in this population, the males may be the vector of transmission to other areas. This heterogeneity should be considered to evaluate management scenarios, in this and other situations.

Keywords: *Brucella melitensis, Bacteriology, Serology, Transmission.*



I - INTRODUCTION

Lors de la découverte du foyer du Bargy en 2012, la dynamique de transmission de la brucellose chez le bouquetin était pour l'essentiel inconnue. En effet, avant ce foyer, seuls des cas sporadiques de brucellose à *Brucella melitensis* avaient été décrits, et la possibilité d'une persistance à long terme dans une population de bouquetins n'était pas considérée comme probable. En 2012 et 2013, après la détection de l'infection chez des personnes et dans un troupeau bovin, les enquêtes réalisées ont indiqué comme source la plus probable la population de bouquetins, chez laquelle l'infection aurait persisté pendant au moins quinze ans depuis la disparition des derniers foyers bovins. Il s'agissait du premier cas de persistance à long terme chez des ongulés sauvages en Europe [Garin-Bastuji *et al.*, 2014].

Compte tenu des enjeux de santé animale et de santé publique, il était nécessaire de proposer des actions de lutte et, pour ce faire, d'identifier les facteurs qui permettent la persistance de l'infection

à un fort niveau de prévalence dans cette population.

Plusieurs questions doivent être abordées pour mieux comprendre la transmission de l'infection. Tout d'abord, il est nécessaire d'identifier les voies de transmission possibles entre animaux infectés et sains, afin de savoir dans quelles circonstances se produit la transmission et de la prévenir. La deuxième question est de savoir dans quelle mesure les animaux porteurs d'anticorps peuvent excréter la bactérie ou du moins porter des bactéries détectables. En effet, la sérologie est souvent utilisée pour diagnostiquer l'infection, mais, dans le cas de la brucellose des bouquetins, la proportion d'animaux séropositifs réellement à même d'excréter des bactéries n'était pas connue. Enfin, les individus peuvent être hétérogènes en termes de présence et de capacité d'excrétion bactérienne. En particulier, la présence de la bactérie peut être corrélée au niveau de réponse immunitaire des individus comme cela a été montré

pour d'autres infections [Gonzalez-Barrio *et al.*, 2015]. Or, une telle hétérogénéité est connue pour avoir des conséquences épidémiologiques majeures sur la dynamique des épidémies, leur probabilité d'extinction mais aussi sur l'efficacité des mesures

de gestion mises en place [Lloyd-Smith *et al.*, 2005]. Pour répondre à ces trois questions, l'étude bactériologique détaillée d'animaux considérés comme infectés était nécessaire.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Entre 2012 et 2017, des bouquetins ont été capturés ou abattus dans le cadre des opérations de lutte et de surveillance menées dans le massif du Bargy. En tout, les captures concernaient 339 individus différents (certains capturés plusieurs fois), qui faisaient l'objet d'un test sérologique lors de la capture, avec euthanasie des animaux séropositifs. Par ailleurs, les opérations d'abattage ont porté sur 326 individus dont 33 ont été analysés pour la sérologie. Les tests sérologiques combinaient le test au Rose Bengale, le test de fixation du complément, un test ELISA indirect, un test ELISA par compétition, et depuis 2014 un test immunochromatographique rapide utilisable sur le terrain, les résultats des tests étant généralement concordants [Corde *et al.*, 2014 ; Lambert *et al.*, 2018]. Au total, les opérations de capture et d'abattage ont permis d'identifier 127 bouquetins séropositifs abattus ou euthanasiés. Pour les autopsies, il était nécessaire de transporter les carcasses dans des conditions de biosécurité appropriées et dans un temps compatible avec de bonnes conditions d'autopsies jusqu'au Laboratoire départemental d'analyse vétérinaires (LDAV) de la

Savoie. Seuls les animaux pour lesquels toutes les informations étaient disponibles (bactériologie, mais aussi âge, sexe, localisation de capture ou d'abattage, date et titre anticorps par le test de fixation du complément) ont été considérés dans ce travail, soit 88 bouquetins séropositifs.

Les bouquetins ont fait l'objet d'une autopsie détaillée et de prélèvements sur 1 à 15 organes. Les organes ciblés étaient ceux habituellement atteints dans les infections brucelliques ou ceux pouvant présenter un potentiel d'excrétion et de transmission important (articulations, tractus génital, mamelles, testicules, nœuds lymphatiques de la sphère génitale, fœtus) ainsi que les organes présentant des lésions. Les cultures bactériennes sur milieu sélectif ont été réalisées au LDAV de la Savoie à l'aide des méthodes standard de l'OIE [Organisation mondiale de la santé animale, 2016 ; Freycon *et al.*, 2017]. Les cultures positives ont fait l'objet d'une numération des colonies bactériennes et ont été classées de 1 à 4 selon qu'elles présentaient moins de 10, 10 à 50, 50 à 100 ou plus de 100 colonies.

III - VOIES DE TRANSMISSION

Pour tester l'existence de différentes voies de transmission, la bactérie a été cherchée dans les organes excréteurs correspondants.

D'après les connaissances dont nous disposions sur la brucellose dans d'autres espèces, quatre voies de transmission pouvaient être supposées. La transmission peut tout d'abord être horizontale (entre individus présents dans la même population au même moment) par voie indirecte *via* les excréments génitaux (avortement et mises-bas compris), ou par voie vénérienne lors des accouplements (dans un sens mâle-femelle ou femelle-mâle). Pour tester ces deux hypothèses, des

cultures bactériennes ont été réalisées sur les excréments génitaux, les écouillons vaginaux et préputiaux, les testicules, le tractus génital et le placenta des animaux autopsiés. La transmission pouvait également être verticale (d'une génération à la suivante), soit par voie congénitale à travers le placenta soit par voie pseudo-verticale *via* le lait. Pour tester ces deux hypothèses, des cultures bactériennes ont été pratiquées sur différents organes de fœtus (cœur, reins, foie, rate, caillette, testicules) ainsi que sur les mamelles chez les femelles.

Au total, 516 résultats bactériologiques ont été obtenus à partir des 88 animaux autopsiés. Les organes infectés ont confirmé la possibilité des quatre voies de transmission envisagées. En effet, 11 des 59 écouvillons génitaux et 14 des 52 tractus génitaux, ainsi qu'un des sept placentas testés ont permis d'isoler des bactéries, confirmant la possibilité d'une transmission indirecte liée à la contamination de l'environnement par les excréments génitales, notamment par les produits de mise-bas ou d'avortement. Chez les mâles, 12 des 32 prélèvements de testicules ont donné un résultat positif, suggérant une transmission vénérienne possible. Il faut noter cependant que les prélèvements ont été faits entre le printemps et l'automne et non en période de rut hivernal, pendant laquelle la physiologie des testicules peut être modifiée. Parmi les trois fœtus testés, l'un a permis la culture de bactéries à partir des cinq organes testés (cœur, reins, foie, rate, caillette) et avait donc été infecté à travers le placenta. Enfin, cinq des sept prélèvements de mamelles ont permis d'isoler la bactérie, ce qui laisse envisager une transmission possible par le lait. Toutefois, pour la voie vénérienne comme pour la voie pseudo-verticale, ce ne sont pas le sperme ni le lait qui ont été testés mais les organes producteurs, l'excrétion bactérienne peut donc seulement être présumée.

De plus, les prélèvements ayant été faits entre le printemps et l'automne, les résultats obtenus pourraient être modulés en fonction de la saison et de la physiologie des organes reproducteurs à cette période.

En plus de ces organes susceptibles d'excréter directement la bactérie, l'infection était fréquemment détectée dans les nœuds lymphatiques supramammaires (17 des 48 femelles analysées), inguinaux (7/20 bouquetins) et iliaques internes (30/79 bouquetins). L'excrétion potentielle, possiblement par recirculation des bactéries à partir de ces organes, était donc elle aussi fréquente.

Les résultats bactériologiques permettent de confirmer que les quatre voies de transmission envisagées sont possibles, ce qui implique un schéma de transmission complexe : si la transmission verticale et pseudo verticale peut expliquer la persistance dans un groupe social, la transmission liée à la contamination environnementale pourrait permettre une transmission vers tous les individus présents localement, et la transmission vénérienne combinée à l'occupation socio-spatiale des deux sexes pourrait permettre une extension spatiale de l'infection.

IV - RELATION ENTRE STATUT SÉROLOGIQUE ET STATUT INFECTIEUX

Le lien entre séropositivité et présence de bactéries détectables a été analysé en mesurant la proportion d'animaux autopsiés chez lesquels la bactérie était détectable. Dans de nombreuses espèces, on rencontre des individus sérologiquement positifs ne permettant pas l'isolement bactérien, la bactérie étant probablement contenue en faible densité dans un nombre restreint d'organes [Huber et Nicoletti, 1986 ; Roffe *et al.*, 1999]. Chez le bouquetin, compte-tenu de la persistance à long terme dans la population, nous nous attendions à une fréquence élevée d'infection détectable et donc active, qui est une condition à la persistance à long terme dans la population.

Au total, la bactérie a été détectée chez 51 (58 %) des animaux autopsiés. En moyenne, sur 5,9

organes analysés par individu, 2,0 cultures étaient positives. Parmi ces 51 bouquetins porteurs d'une infection active, 45 permettaient l'isolement bactérien à partir d'un échantillon du tractus urogénital ou un nœud lymphatique de la région pelvienne. Cette présence pouvait refléter une infection latente comprenant un risque d'excrétion suite à une recirculation de la bactérie, les animaux correspondants ont donc été considérés comme excréteurs potentiels. Parmi ces excréteurs potentiels, 26 (51 %, soit 30 % de tous les animaux autopsiés) avaient au moins une culture positive dans un organe du système urogénital et ont donc été considérés comme excréteurs effectivement la bactérie au moment de la capture.

V - CARACTÉRISTIQUES DES ANIMAUX INFECTIEUX

Nous supposons que la probabilité de trouver des cultures positives pouvait varier avec l'âge. En effet, dans d'autres espèces, l'excrétion bactérienne peut soit se poursuivre au cours du temps, comme chez la chèvre, soit diminuer avec l'âge comme chez le bison [Treanor *et al.*, 2011]. Nous avons également formulé l'hypothèse que le niveau de réaction immunitaire, mesuré par la concentration en anticorps évaluée par le test de fixation du complément, pouvait être corrélé à la présence d'une infection active, comme cela a été montré précédemment chez des ovins [Durán-Ferrer *et al.*, 2004].

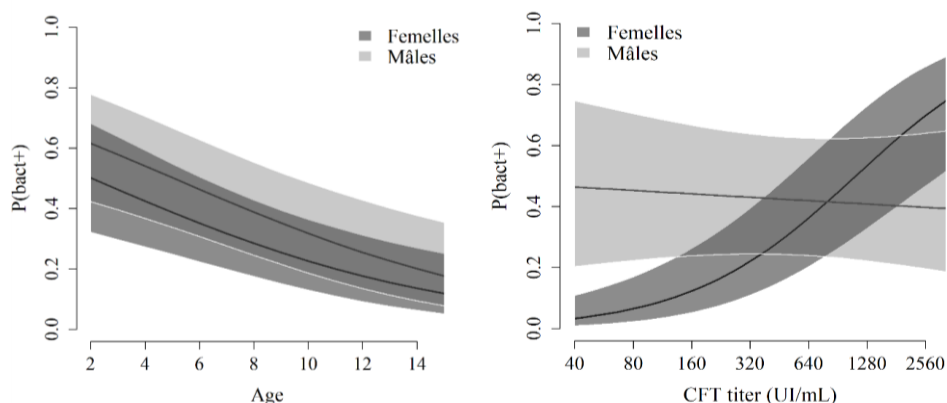
Enfin, pour tester ces hypothèses et identifier les caractéristiques des individus les plus souvent infectieux, nous avons analysé la probabilité d'obtenir un résultat positif en culture bactérienne pour un individu séropositif, à l'aide de modèles linéaires généralisés mixtes de type binomial. Pour prendre en compte le fait que le nombre de cultures réalisées était différent d'un individu à l'autre, le nombre de cultures réalisées pondérait les données pour chaque individu. Nous avons testé les effets de l'âge, du sexe, du titre en anticorps mesuré par fixation du complément, de la période (avant/après les mesures d'abattage massif de fin 2013), du traitement des échantillons (culture effectuée après congélation ou non) et des interactions deux à deux entre les variables âge, sexe et titre, la dynamique

d'infection pouvant être variable entre classes d'âge et de sexe. Les modèles ajustés prenaient aussi en compte deux variables aléatoires, l'année et le secteur, la dynamique d'infection étant variable entre les cinq secteurs du massif [Marchand *et al.*, 2017]. À partir du modèle incluant tous les effets des variables à tester, tous les sous-modèles ont été ajustés et comparés en utilisant le critère d'Akaike corrigé pour les petits effectifs (AICc), une faible valeur d'AICc indiquant un bon compromis entre qualité d'ajustement et simplicité du modèle. Dans le modèle sélectionné, les paramètres représentent les logarithmes des odds-ratios (OR), qui sont des estimateurs du risque relatif associé à chaque modalité comparée. La significativité de chaque paramètre inclus dans le modèle sélectionné a été testée à l'aide du test de Wald. Nous avons également vérifié la distribution normale des effets aléatoires et les hypothèses du modèle à l'aide de représentations graphiques. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R [R Development Core Team 2017] et la fonction dredge de la librairie MuMIn [Kamil, 2016] pour la sélection de modèle.

Le modèle retenu pour expliquer la probabilité de culture positive incluait les effets de l'âge, du sexe, du titre sérologique et l'interaction entre le sexe et le titre sérologique (figure 1).

Figure 1

Probabilité d'obtention d'une culture bactérienne positive modélisée en fonction du sexe et de l'âge (gauche) et en fonction du sexe et du titre sérologique mesuré par fixation du complément (droite), à partir des données obtenues sur 88 bouquetins *Capra ibex* issus du massif du Bary (France) autopsiés entre 2012 et 2017



Le risque d'excréter la bactérie diminue avec l'âge : il est multiplié par un OR=0,85 pour chaque année de vie, avec un intervalle de confiance à 95 %, IC95, de [0,77-0,93]. L'excrétion bactérienne est donc plus probable chez les jeunes animaux infectés, possiblement en lien avec une infection primaire, impliquant un avortement possible à la première gestation pour les femelles, tel qu'il est connu chez les ruminants domestiques. Les animaux jeunes sont donc moins souvent infectés que les plus âgés [Marchand *et al.*, 2017] mais parmi les infectés, plus souvent excréteurs. Ce schéma ne concerne cependant que les animaux âgés d'au moins deux ans, aucune information n'ayant été recueillie chez des bouquetins plus jeunes.

La probabilité de culture positive était également légèrement plus élevée chez les mâles par rapport aux femelles : OR=1,55 [0,97-2,47] (figure 1). Cela ne signifie pas nécessairement un rôle épidémiologique plus important pour les mâles que pour les femelles. Tout d'abord des organes différents ont été testés, ce qui rend la comparaison peu évidente. D'autre part, le potentiel d'excrétion et de contact avec d'autres bouquetins est différent entre les sexes : pour les mâles, il concerne essentiellement le rut, une femelle étant exposé à chaque accouplement ; tandis que les femelles peuvent infecter leur partenaire au moment du rut, mais aussi tous les congénères en contact avec l'environnement infecté lors d'avortement ou de mise-bas. Le rôle respectif des mâles et des femelles

pourrait donc être qualitativement distinct : l'excrétion par les femelles pourrait contribuer à la contamination environnementale et donc au maintien de l'infection dans un secteur, tandis que les mâles pourraient être impliqués dans la transmission entre secteurs.

Enfin, l'excrétion bactérienne était liée à la réponse sérologique : chez les femelles, ce risque était multiplié par OR=2,71 [1,84-3,97] par unité de log(titre), tandis que cette relation n'existait pas chez les mâles (=0,83 [0,45-1,52], figure 1). Bien que le titre en anticorps diminue au fil de l'âge, cette relation était présente une fois pris en compte l'âge des femelles, ce qui suggère que le niveau de réponse sérologique est un facteur supplémentaire d'hétérogénéité d'excrétion en plus de l'âge chez les femelles. Ce résultat suggère que l'examen du niveau de réponse sérologique pourrait permettre d'identifier, au moins *a posteriori*, les femelles présentant un risque élevé d'excrétion. L'identification de ces femelles pourrait permettre de mieux comprendre la persistance de l'infection dans certains secteurs géographiques. En particulier, chez les femelles âgées, on observe simultanément une diminution du titre sérologique et une diminution du risque d'excrétion liée à l'âge. Ces deux observations laissent penser que la réaction immunitaire conduit progressivement à une diminution du risque d'excrétion, possiblement liée à une séquestration des bactéries dans des organes non ouverts.

VI - CONCLUSION

Ce résultat illustre l'hétérogénéité du risque d'infection par la brucellose, qui pourrait être largement lié aux quelques individus jeunes, notamment femelles. Les mâles et les femelles pourraient donc jouer des rôles épidémiologiques distincts, avec des femelles impliquées dans le maintien de l'infection dans un secteur, et des

mâles dans la transmission entre secteurs. Le fort potentiel d'excrétion chez les femelles jeunes peut avoir contribué au maintien de l'infection à long terme dans cette population.

Cette hétérogénéité doit être prise en compte pour évaluer des scénarios de gestion, dans cette situation comme dans d'autres cas.

BIBLIOGRAPHIE

Corde Y., Drapeau A., Game Y., Maucci E., Hars J., Jaÿ M., et Garin-Bastuji B. - A rapid test for evaluating *B. melitensis* infection prevalence in an Alpine ibex (*Capra ibex*) reservoir in the French Alps, in Proceedings of the Brucellosis 2014 International Research Conference,

including the 67th Annual Brucellosis Research Meeting (Berlin), 2014, 221.

Durán-Ferrer M., León L., Nielsen K., Caporale V., Mendoza J., Osuna A., Perales A., Smith P., De-Frutos C., Gómez-Martín B., Lucas A., Chico R., Delgado O.D., J.C. Escabias J.C., Arrogante L.,

- Díaz-Parra R., Garrido F. - Antibody response and antigen-specific gamma interferon profiles of vaccinated and unvaccinated pregnant sheep experimentally infected with *Brucella melitensis*. *Vet. Microbiol.*, 2004, **100**, 219-231. doi: 10.1016/j.vetmic.2004.02.008
- Freycon P., Game Y., Hars J., Gilot-Fromont E. - Étude lésionnelle de la brucellose due à *Brucella melitensis* chez le bouquetin des Alpes *Capra ibex*. *Bull. Acad. Vét. France*, 2017, **170**, 1-5. doi: 10.4267/2042/62276
- Garin-Bastuji B., Hars J., Drapeau A., Cherfa M.-A., Game Y., Le Horgne J.M., Rautureau S., Maucci E., Pasquier J.J., Jaÿ M., Mick V. - Reemergence of *Brucella melitensis* in wildlife, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, **20**, 1570-1571.
- González-Barrio D., Martín-Hernando M.P., Ruiz-Fons F. - Shedding patterns of endemic Eurasian wild boar (*Sus scrofa*) pathogens. *Res. Vet. Sci.*, 2015, **102**, 206-211. doi: 10.1016/j.rvsc.2015.08.014
- Huber J.D., Nicoletti P. - Comparison of the results of card, rivanol, complement-fixation, and milk ring tests with the isolation rate of *Brucella abortus* from cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, **47**(7), 1529-1531.
- Kamil B. - MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.15.6. 2016, disponible en ligne: <http://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Lambert S., Gilot-Fromont E., Freycon P., Thébault A., Game Y., Toïgo C., Petit E., Barthe M.-N., Reynaud G., Jaÿ M., Garin-Bastuji B., Ponsart C., Hars J., Rossi S. - High shedding potential and significant individual heterogeneity in naturally-infected Alpine ibex (*Capra ibex*) with *Brucella melitensis*. *Front. Microbiol.*, 2018, **9**, 1065. doi: 10.3389/fmicb.2018.01065
- Lloyd-Smith J.O., Schreiber S.J., Kopp P.E., Getz W.M. - Superspreading and the effect of individual variation on disease emergence. *Nature*, 2005, **438**, 355-359. doi: 10.1038/nature04153
- Marchand P., Freycon P., Herbaux J.P., Game Y., Toïgo C., Gilot-Fromont E., Rossi S., Hars J. - Sociospatial structure explains marked variation in brucellosis seroprevalence in an Alpine ibex population. *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 15592. doi: 10.1038/s41598-017-15803-w
- Mick V., Le Carrou G., Corde Y., Game Y., Jaÿ M., Garin-Bastuji B. - *Brucella melitensis* in France: persistence in wildlife and probable spillover from Alpine ibex to domestic animals. *PLoS ONE*, 2014, **9**(4), e94168.
- R Core Team - R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienne, 2017. Disponible en ligne: <https://www.R-project.org/>
- Roffe T.J., Rhyan J.C., Aune K., Philo L.M., Ewalt D.R., Gidlewski T., Hennager S.G. - Brucellosis in Yellowstone National Park bison: quantitative serology and infection. *J. Wildl. Manage.*, 1999, **63**, 1132-1137. doi: 10.2307/3802831
- Treanor J.J., Geremia C., Crowley P.H., Cox J.J., White P.J., Wallen R.L., Blanton D.W. - Estimating probabilities of active brucellosis infection in Yellowstone bison through quantitative serology and tissue culture. *J. Appl. Ecol.*, 2011, **48**, 1324-1332. doi: 10.1111/j.1365-2664.2011.02058.x
- World Organization for Animal Health (OIE) - "Chapter 2.1.4: Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*)," in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Paris), 2016, 1-44. Available online at: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.04_BRUCELLOSIS.pdf



Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier l'ensemble des agents et chercheurs de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage, les services vétérinaires, les vétérinaires praticiens et la Préfecture de la Haute-Savoie qui ont permis l'organisation et la réalisation du suivi de la population.

Nous remercions l'équipe du Laboratoire Départemental d'analyses vétérinaires de la Savoie qui a réalisé les autopsies et les études bactériologiques, ainsi que l'équipe Anses/Laboratoire de référence national, européen, OIE et FAO pour les brucelloses animales, qui a réalisé le typage des souches.

Nous remercions également les financeurs de cette étude : l'ONCFS, l'Anses et le Ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation, l'école doctorale E2M2 et le labex Ecofect.