

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 9 Mars 2021**

**Par Mlle COCHEZ Laurie**

---

**La brucellose : une anthroponose rurale à répercussions  
économiques et impact sur la santé publique**

---

**Membres du jury :**



**Président :** Foligné Benoît, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

**Directeur, conseiller de thèse :** Singer Elisabeth, Maître de conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs :**

- Boucher Thierry, Pharmacien titulaire, Avion
- Carnoy Christophe, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille
- Cornuel Sophie, Pharmacien titulaire, Liévin



 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 1/10

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
<b>Audrey Hennebelle</b> Assistante de direction	<b>Cyrille Porta</b> Responsable des Services	<b>Bertrand Décaudin</b> Doyen 

### Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-président formation tout au long de la vie :	Christophe MONDOU
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-présidente ressources :	Georgette DAL
Directrice Générale des Services :	Marie-Dominique SAVINA

### Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la faculté :	Claire PINÇON
Assesseur aux études :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Augustin CLERGIER

 Université de Lille 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 2/10

**Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

**Professeurs des Universités (PU)**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 3/10

M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et économie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 4/10

Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et économie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

#### Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

#### Maitres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86



 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 5/10

Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 6/10

M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et économie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et économie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86



 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 7/10

Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

 Université de Lille 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 8/10

#### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

#### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et économie pharmaceutique	86

#### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et économie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et économie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2020-2021	Version 1.0 Applicable au 16/10/2020
Document transversal		Page 9/10

**Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	VAISSIÉ	Alix	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81

**Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

**Enseignant contractuel**

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière



***Faculté de Pharmacie de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**



## **Remerciements**

### **À ma directrice de thèse, Mme Singer,**

Merci à vous de m'avoir guidé tout au long de mon parcours pour l'écriture de cette thèse ainsi que de m'avoir orienté dans les bonnes directions. Merci pour votre dévouement, vos conseils, votre patience et votre investissement.

### **À mon président du jury, Mr. Foligné,**

Merci d'avoir accepté de participer et de présider mon jury ainsi que pour l'attention que vous portez à ma thèse.

### **À Mr. Boucher, Pharmacien titulaire,**

Merci à vous de prendre part à mon jury, mais au delà de cela, merci de votre investissement professionnel et du temps que vous m'avez consacré durant ce stage de sixième année. Vous avez contribué à faire de moi la pharmacienne que je suis aujourd'hui. Je ne sais combien vous remercier pour tout le temps passé à mes côtés et à exiger le meilleur de moi-même. Je tâcherai durant toute ma carrière professionnelle à faire ressortir tout ce que vous m'avez appris, notamment grâce aux nombreux conseils que vous m'avez prodigués. Un merci ne représente certainement pas assez face à votre dévouement, alors je vous dis mille fois merci.

### **À Mr. Carnoy, Professeur des universités,**

Merci d'avoir accepté de participer à mon jury, et de porter de l'intérêt auprès de ma thèse.

### **À Mme Cornuel, Pharmacien titulaire,**

Merci à vous d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, et merci à toute l'équipe de m'avoir accueilli chaleureusement au sein de votre officine

**À mes parents, Françoise et Sylvain, et ma sœur Pèrrine,**

Merci à vous de m'avoir soutenue, et accompagnée durant toutes ces années d'études. Vous n'avez jamais cessé de croire en moi. Même si parfois je n'étais pas facile à vivre, votre soutien était des plus précieux. Merci à vous pour tout, du fond du cœur.

**À Thibaut,**

Merci à toi pour ce soutien depuis le début de mes études, et les sacrifices que nous avons fait durant toutes ces années. Tu as toujours cru en moi, mais tu as également toujours manifesté ta réjouissance lors de mes réussites. Au contraire, pardonne-moi d'avoir passé parfois plus de tête à tête avec mes livres ou encore avec *Brucella*, qu'avec toi. Aujourd'hui une nouvelle vie commence, et c'est la notre.

**À Christophe, Valérie, et Marie-Paule,**

Merci pour tout, vous m'avez toujours accueilli les bras ouverts au sein de vos foyers respectifs. Merci pour votre soutien, et de n'avoir jamais cessé de croire en moi.

**À Estelle,**

Mon amie, ces années passées à la faculté avec toi auront été les meilleures. Merci d'avoir toujours été là, ton amitié est la plus précieuse.

**Aux membres de ma famille, et mes amis**

Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir toujours encouragé, la lumière au bout du tunnel est enfin visible.

**À l'équipe de la pharmacie Boucher,**

Merci pour votre bienveillance, votre gentillesse, ainsi que votre soutien.



**À Cooki,**

Mon fidèle compagnon durant toutes ses années, parti trop tôt, qui m'a inspiré pour ce long travail.



## Plan

Remerciements.....	13
Index des illustrations.....	21
Index des tableaux.....	23
Glossaire.....	25
Introduction.....	27
I. Historique :.....	29
A) Découverte de la Brucellose :.....	29
B) Isolement et appellation de l'agent causal :.....	30
II. Epidémiologie de la brucellose :.....	31
A) Répartition géographique et répartition d'hôtes :.....	31
1) Mondiale :.....	31
a) Humaine :.....	31
b) Animale :.....	32
2) Française :.....	33
a) Humaine :.....	33
b) Animale :.....	34
3) Répartition professionnelle :.....	35
a) Milieu professionnel :.....	35
b) Laboratoire :.....	35
III. Caractéristiques microbiologiques des bactéries du genre Brucella :.....	36
A) Classification :.....	36
B) Morphologie des brucelles :.....	38
C) Infectiosité et risque biologique :.....	40
D) Sensibilité et résistance aux antibiotiques :.....	41
1) Sensibilité :.....	41
a) In vitro :.....	41
b) Les modèles animaux :.....	42
c) In vivo :.....	42
2) Résistances :.....	42
E) Habitat et présence de Brucella dans l'environnement :.....	43
IV. Maladie chez l'animal :.....	45
A) Pathogénie et réponse immune chez les petits ruminants domestiques :.....	45
1) Les phases de l'infection à Brucella :.....	45
a) Physiopathologie de la Brucellose :.....	46
i. La période primaire :.....	46
ii. La période secondaire :.....	47
2) La réponse immune :.....	48
a) L'immunité innée :.....	48
b) Immunité spécifique acquise :.....	49
c) Les stratégies d'échappement à la réponse immunitaire :.....	50
B) Manifestations cliniques chez l'animal :.....	50
1) Exemple de brucellose aiguë chez les petits ruminants :.....	51
2) La brucellose chronique chez l'animal :.....	51

3) Lésions macroscopiques et microscopiques : .....	52
C) Diagnostic de la brucellose animale : .....	52
1) Diagnostic clinique chez l'animal : .....	52
2) Diagnostic expérimental chez l'animal : .....	52
a) Le diagnostic direct : .....	53
i. La coloration de Stamp : .....	53
ii. La culture de Brucella : .....	54
iii. Méthode PCR : .....	55
b) Diagnostic indirect : .....	55
i. Technique de l'EAT (Technique au Rose Bengale) : .....	56
ii. Test de fixation au complément : .....	56
iii. L'ELISA indirecte : .....	57
iv. Technique de l'épreuve cutanée allergique (ECA) : .....	58
v. Le ring test (RT) : .....	59
V. Maladie chez l'Homme : .....	61
A) Les modes de contamination : .....	61
1) Contamination par contact direct : .....	61
2) Contamination par contact indirect : .....	61
B) Incubation de la maladie : .....	62
C) Clinique : .....	62
1) Phase aiguë septicémique : .....	62
2) Phase secondaire post-septicémique sub-aiguë ou focalisée : .....	63
3) Formes chroniques : .....	64
4) Chez la femme enceinte : .....	64
5) Tableau récapitulatif des différentes formes cliniques de la brucellose : .....	65
D) Diagnostic de la brucellose humaine : .....	66
1) Prélèvements : .....	66
2) Diagnostic direct : .....	66
a) Mise en culture et identification bactérienne : .....	66
b) L'amplification génique par PCR : .....	67
3) Diagnostic indirect : .....	68
a) Serodiagnostic de Wright (SAW) : .....	68
b) Réaction de fixation du complément (RFC) : .....	69
c) Tableau récapitulatif de l'intérêt des différentes méthodes de diagnostic de la brucellose : .....	69
E) Traitement de la brucellose humaine : .....	70
VI. Etudes de cas atypiques de brucellose humaine : .....	73
A) Cas d'un patient contaminé dans un pays en zone d'endémie : .....	73
B) Cas d'une ostéonécrose de têtes fémorales causées par Brucella : .....	75
VII. Moyens prophylactiques utilisés contre la brucellose animale : .....	80
1) Exigences sanitaires françaises chez l'animal : .....	80
a) Exemple de l'obtention du statut « Indemne de brucellose » dans un cheptel bovin : .....	80
b) Mesures de police sanitaire chez les bovins : .....	82
2) Marche à suivre après une contamination chez l'animal : .....	84
B) Prévention anti-brucellique chez l'Homme par la pasteurisation : .....	85

VIII. Vaccination anti-brucellique : .....	87
A) Vaccination chez l'animal : .....	87
1) Bases de la vaccination : .....	87
2) Historique de vaccination en France depuis 1975 : .....	88
3) Vaccins anti-brucelliques chez l'animal : .....	90
a) Vaccin S19 : .....	90
b) Vaccin Rev.1 : .....	91
c) Vaccin RB51 : .....	93
B) Vaccination anti-brucellique chez l'Homme : .....	93
C) Etat des lieux de la vaccination de la faune sauvage: Exemple chez deux espèces aux USA (Parc national de Yellowstone) : .....	94
IX. Indemnisation des éleveurs face à l'abattage des bovins et caprins : .....	96
A) Indemnisation d'un cheptel bovin : .....	96
B) Indemnisation d'un cheptel caprin : .....	97
C) Cas où l'indemnisation n'est pas attribuée : .....	97
X. Gestion du foyer de brucellose des bouquetins au sein du massif de Bargy en Haute-Savoie depuis 2012 : .....	98
A) Contexte : .....	98
B) Séroprévalence des bouquetins de Bargy depuis 2013: .....	99
C) Evaluation du risque de la contagion entre la faune sauvage et domestique : .....	100
1) Evaluation de l'émission de brucelles par Capra ibex au sein du massif de Bargy : ..	100
2) Le risque de contamination face à l'exposition : .....	102
3) Le risque de transmission : .....	103
D) Mesures de maîtrises de la brucellose chez Capra ibex : .....	103
E) Problématiques de gestion : .....	108
1) Problématique liée à la vaccination : .....	108
2) Problématique lié à la capture et aux interventions sur les bouquetins : .....	108
F) Rôles de la structuration socio-spatiale et de la génétique dans l'infection brucellique chez Capra Ibex : .....	109
1) Structuration socio-spatiale de l'infection au sein du massif de Bargy : .....	109
2) Rôle de la génétique chez Capra ibex lors de l'infection brucellique : .....	111
Conclusion.....	115
Bibliographie.....	117



## **Index des illustrations**

Illustration 1: Cas de brucellose reportés à l'hôpital de Valletta à Malte entre 1876 et 1888. .29	
Illustration 2: Répartition géographique de la brucellose humaine dans le monde (2006)	
Source : <a href="http://thelancet.com">http://thelancet.com</a> Vol 6 February 2006.....	31
Illustration 3: Distribution géographique par région de résidence des cas de brucellose humaine déclarés en France en 2019.....	34
Illustration 4: Brucella sp (coloration de Gram, hémoculture) de l'université de Franche-Comté, Besançon .....	39
Illustration 5: Observation microscopique de Brucella après coloration de Stamp de Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup.....	54
Illustration 6: Coloration d'un sérum à tester au Rose Bengale : Résultat négatif à gauche, positif à droite (agglutination) de Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup.....	56
Illustration 7: Test de fixation au complément d'un sérum à tester : Résultat positif à gauche, négatif à droite (hémolyse) de Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup.....	57
Illustration 8: Photo d'une culture de colonies de Brucella melitensis du CDC (2002).....	67
Illustration 9: Intérêt des différentes méthodes de diagnostic de la brucellose.....	69
Illustration 10: Radiographie du bassin du patient montrant que la tête fémorale droite est atteinte d'ostéonécrose (Stade III), contrairement à la gauche qui semble normale (Stade II). 76	
Illustration 11: Radiographie (A) et IRM (B) des hanches du patient, montrant une ostéonécrose de la tête fémorale droite au stade IIIC 1 an après le premier diagnostic. ....	77
Illustration 12: Evolution de l'incidence (nombre et taux) des cheptels infectés par la brucellose chez les bovins en France de 1995 à 2011. Sur l'ordonnée de gauche : Nombre de nouveaux foyers annuels (barres), sur l'ordonnée de droite : le taux d'incidence annuel en % (points).....	90
Illustration 13: Photographie d'une vaccination d'un bouquetin par voie conjonctivale à la réserve zoologique de la Haute-Touche le 6 février 2017 (ANSES).....	92
Illustration 14: Distribution de la séroprévalence chez les bouquetins du massif de Bargy en fonction de l'âge, et du sexe des individus (et intervalle de confiance à 95%) en 2013 (figure 1a), en 2014 (figure 1b) et en 2015 chez 83 bouquetins capturés (figure 1c).....	99
Illustration 15: Bouquetin capturé en 2013 dans le massif de Bargy subissant un prélèvement sanguin en vue de son statut sérologique envers la brucellose.....	106
Illustration 16: Lâcher d'un bouquetin mâle par des agents de terrains, préalablement capturé pour l'équiper de boucles auriculaires manifestant son statut séronégatif vis à vis de la	

brucellose, et équipement d'un collier GPS dans le massif de Bargy en mai 2015.....	107
Illustration 17: Distribution géographique de la population des bouquetins du massif de Bargy suivis par collier GPS chez les femelles et les mâles.....	110



## **Index des tableaux**

Tableau 1: Caractères épidémiologiques et pouvoir pathogène chez l'Homme des différentes espèces et différents biovars du genre Brucella. (2019) .....	38
Tableau 2: Tableau récapitulatif des différentes formes cliniques de la brucellose.....	65
Tableau 3: Options thérapeutiques de traitement de la brucellose selon les formes cliniques.	71



## **Glossaire**

ADN = Acide Désoxyribonucléique

ANSES = Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

ANSM = Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

APDI = Arrêté Préfectoral de Déclaration d'Infection

ASDA = Attestation Sanitaire à Délivrance Anticipée

AST = Aspartate Aminotransférase

CHU = Centre Hospitalier Universitaire

CMH = Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMI = Concentration Minimale d'Inhibition

CNR = Centres Nationaux de Référence

CO<sub>2</sub> = Dioxyde de carbone

CPA = Cellule Présentatrice d'Antigène

CRP = Protéine C Réactive

DDSV = Direction Des Services Vétérinaires

DGAL = Direction Générale de l'Alimentation

EAT = Épreuve à l'Antigène Tamponné

ECA = Épreuve Cutanée Allergique

ECBU = Examen Cytobactériologique des Urines

EEG = Électroencéphalogramme

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay

GPS = Global Positioning System

IFN $\gamma$  = Interféron gamma

Ig = Immunoglobuline

ILRI = International Livestock Research Institute

InVS = Institut de Veille Sanitaire

LCR = Liquide Céphalo-rachidien

LPS = Lipopolysaccharide

NK = Natural Killer

OIE = Organisation mondiale de la santé animale  
OMS = Organisation Mondiale de la Santé  
ONCFS = Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage  
PCR = Polymérase Chain Reaction  
PNN = Polynucléaire Neutrophile  
RFC = Réaction de Fixation au complément  
RT = Ring Test  
TEP = Tomographie par Emission de Positons  
TLR = Toll-like Receptors  
Th1 = T helpers 1  
TNF = Tumor Necrosis Factor  
UFC = Unités Formant Colonie  
UHT = Ultra Haute Température  
USA = United States of America  
VHF = Very High Frequency

## Introduction

La brucellose est une zoonose connue pour provoquer des fièvres chez l'Homme. C'est pourquoi elle est connue sous le nom de fièvre de Malte, là où a été découvert ce pathogène. Cette pathologie touche environ 500 000 personnes par an, principalement les personnes en zones d'endémies.

La brucellose est une pathologie provoquée par une bactérie appartenant au genre *Brucella*. Cette bactérie est un cocco-bacille à Gram négatif qui se transmet de l'animal à l'Homme de façon accidentelle. Parmi ce genre, on retrouve trois espèces qui sont les plus pathogènes pour l'Homme : *B. melitensis* (ovins), *B. abortus* (ovins et caprins), *B. suis* (porcin). Ce pathogène nécessite des conditions de cultures très particulières, ce qui rend son diagnostic de certitude laborieux. Un arsenal thérapeutique est disponible afin de traiter la pathologie chez l'Homme, par association d'au moins deux antibiotiques évitant les rechutes liées à la monothérapie.

Chez l'animal, la bactérie se transmet principalement par voie vénérienne, par contact avec les produits corporels issus d'avortements, ou encore lors de la mise bas chez la femelle. D'autres modes de transmission existent chez l'animal par contacts directs, comme lors de l'allaitement de la mère chez son petit.

Chez l'Homme la contamination peut s'effectuer par contact avec un animal contaminé, lors de prélèvements de fluides biologiques, ou encore par la manipulation de produits biologiques en laboratoire. De plus elle est considérée comme un agent biologique de classe 3, ce qui nécessite des précautions particulières lors de manipulations. Au sein de la population générale, il est possible de retrouver une contamination par ingestion de produits laitiers non pasteurisés, ce qui est déjà arrivé en France. Ces incidents ont fait l'objet d'études menant à la découverte d'un foyer brucellique animal. Chez l'Homme en plus des fièvres *Brucella* est également responsable de formes chroniques, ou encore de formes focalisées avec atteintes d'organes.

Chez l'animal, la brucellose est responsable d'avortements chez les femelles, d'orchites et d'épididymites chez le mâle. *Brucella* peut très vite se disséminer au sein d'un troupeau, c'est pourquoi elle est crainte par les éleveurs.

Aujourd'hui, la France est considérée comme officiellement indemne de brucellose bovine depuis 2005. Tout animal domestique séropositif doit donc être signalé auprès du vétérinaire de référence, et isolé s'il est atteint de la brucellose, afin d'identifier les autres individus contaminés, et d'écartier tout risque de propagation de la zoonose au sein du troupeau, ce qui serait tragique pour l'éleveur concerné. Les individus séropositifs doivent être abattus, car laissés en vie, ils auraient le temps de laisser *Brucella* se disséminer dans l'environnement et de contaminer d'autres congénères. Aujourd'hui un foyer de brucellose animal est actuellement sous surveillance, il s'agit de la population de bouquetins, du massif de Bargy en Haute Savoie. L'espèce *Capra ibex*, est atteinte de cette pathologie depuis 2012 (Date à laquelle les premiers cas ont été découverts). L'ANSES s'est penchée sur le cas des bouquetins de Bargy, entraînant des mesures de prophylaxie mais également d'autres mesures plus drastiques. C'est donc à travers cette thèse que vous découvrirez que la brucellose est une pathologie méconnue, mais qui ne doit pourtant pas être sous estimée, qu'il s'agisse de l'Homme ou de l'animal.

## I. Historique :

### A) Découverte de la Brucellose :

La Brucellose est une zoonose qui touche d'abord les animaux domestiques puis les êtres humains depuis plus de 2 000 ans. Les principales régions d'endémies sont le bassin Méditerranéen, la Mongolie, la Russie, l'Amérique Latine, les Caraïbes, le Mexique et le Moyen-Orient. (1)

Elle fut découverte pour la première fois en 1863 à Malte, d'où son autre appellation «Fièvre de Malte ». David Bruce né à Melbourne en Australie, chirurgien de l'armée Britannique (1855-1931) en poste sur l'île de Malte était confronté à une maladie fréquente, responsable pour les soldats d'une longue période d'hospitalisation, et d'une faible mortalité. Il s'agissait de cas de contaminations repérés dans la garnison de l'armée anglaise provoquant une fièvre ondulante et dus à la consommation du lait de chèvre.

Le nombre de patients admis à l'hôpital de Valletta à Malte de 1876 à 1888 a été reporté par le docteur Bruce (Illustration 1.)

Table 1.1 Number of cases admitted to Valletta Hospital from 1876 to 1888

Year	Cases
1876	28
1877	43
1878	56
1879	33
1880	27
1881	5
1882	5
1883	27
1884	44
1885	11
1886	91
1887	109
1888	45

*Illustration 1: Cas de brucellose reportés à l'hôpital de Valletta à Malte entre 1876 et 1888*

(2)

Eyre J.W.H., un professeur de bactériologie à Londres reporta ensuite durant 7 ans (de 1901 à 1907) l'incidence de la maladie liée à la consommation du lait de chèvre dans l'armée et la marine. En 1907 les troupes eurent l'interdiction de

consommer du lait de chèvre, ainsi l'incidence de la maladie régressa nettement durant cette année ce qui suggéra le lien entre la maladie et la consommation du lait de chèvre.

## B) Isolement et appellation de l'agent causal :

David Bruce isola en 1887 la bactérie responsable de la maladie à partir de biopsies tissulaires de rate provenant de soldats britanniques décédés. Le microorganisme reçut quelques années plus tard, dans un premier temps, le nom de "*Micrococcus melitensis*".(3)

Un éminent microbiologiste anglais de l'école de Médecine de Netley, Almoth Edward Wright (1861-1947) proposa en 1896-1897 un test de diagnostic de cette maladie qui imitait le test d'agglutination des salmonelles dans les sérums des patients atteints de fièvre typhoïde. Ce test sérologique connu comme « test de séroagglutination de Wright » et encore utilisé maintenant, démontrait la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des patients. Il permit alors de montrer que la fièvre de Malte était également largement répandue dans le Bassin Méditerranéen mais aussi sur tous les continents.

La même année, un médecin vétérinaire danois Bernhard Lauritz Frederik Bang décrivait des bactéries responsables de la brucellose bovine et une forme de brucellose humaine appelée « fièvre ondulante de Bang » ou « maladie de Bang ». (3)

Le caractère zoonotique de cette maladie fut admis quelques années plus tard, au début du 20<sup>ème</sup> siècle. Les bactéries responsables reçurent finalement un nom inspiré de leur premier découvreur : *Brucella*.(3)

Différentes espèces de *Brucella* ont fini par être identifiées : *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis*, en fonction des espèces animales chez lesquelles elles étaient isolées (3)



## II. Epidémiologie de la brucellose :

### A) Répartition géographique et répartition d'hôtes :

#### 1) Mondiale :

##### a) Humaine :

La brucellose est une maladie à répartition mondiale (Illustration 2). Elle est particulièrement retrouvée dans le bassin méditerranéen, en Asie centrale, en Amérique centrale, en Amérique du Sud, au Mexique et en Inde. Les pays n'ayant pas un bon système de surveillance, et/ou ne maîtrisant pas l'infection chez l'animal et où la pasteurisation du lait n'est pas systématique, sont les plus touchés. (4)

*B. melitensis* et *B. abortus* sont les espèces le plus souvent en cause, avec *B. melitensis* étant responsable des infections les plus graves. (5)

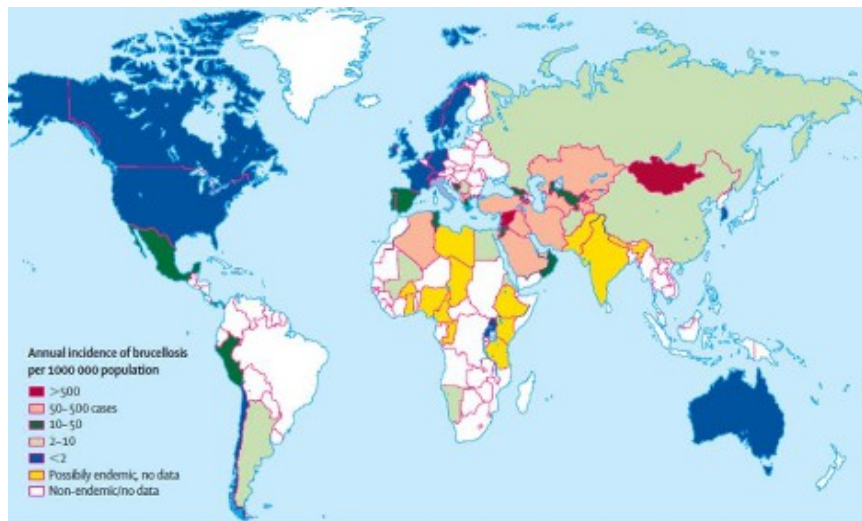


Illustration 2: Répartition géographique de la brucellose humaine dans le monde (2006) Source : <http://thelancet.com> Vol 6 February 2006 (4)

L'incidence de la brucellose humaine est estimée par l'OMS au niveau mondial à 500 000 nouveaux cas par an. (6) La situation mondiale de la brucellose humaine peut être scindée en deux groupes : le premier constituant les infections autochtones fréquentes des pays enzootiques, et le second représentant les infections rares des voyageurs des pays indemnes de brucellose animale.

Aux USA depuis plus de 10 ans on retrouve moins de 100 cas par an ; et jusqu'à 200 cas / 100 000 habitants au Moyen-Orient. Dans certains pays en raison de l'absence de systèmes de surveillance, l'incidence rapportée est faible. (7)

En Europe, l'incidence de la brucellose demeure endémique dans certains pays tels que la Grèce, le Portugal, l'Espagne, ou l'Italie. (5)

b) Animale :

i. Animaux sauvages :

Les animaux sauvages constituent un réservoir important des *Brucella*. De nombreux mammifères terrestres en font partie mais depuis peu le réservoir s'est étendu aux mammifères marins, notamment les cétacés (dauphins), les pinnipèdes (phoques, otaries et morses) vivants dans les mers et océans de l'Europe et d'Amérique du Nord (océans Atlantique et Pacifique, mer du Nord, mer Méditerranée). (5)

Chez les mammifères terrestres, *B. melitensis*, *B. abortus*, et *B. suis* sont les espèces les plus répandues. *B. melitensis* infecte les ovins et les caprins fréquemment dans la zone sud du bassin méditerranéen, et au Moyen-Orient. *B. abortus* infecte les bovins mais la maladie est considérée comme étant éradiquée dans certains pays d'Europe, au Canada, en Australie, en Nouvelle Zélande, en Israël et au Japon. Plus rarement, les porcins sont infectés par *B. suis*, excepté en Asie du Sud-Est et en Amérique du Sud. En revanche, l'infection des suidés sauvages est plus répandue. Le lièvre fait également partie du réservoir de *B. suis* en Europe. (5)

ii. Animaux domestiques :

Les animaux d'élevages, types ovins, bovins, caprins, suidés, vont être touchés par les *Brucella*, par contact avec des animaux sauvages, eux-mêmes contaminés par les bactéries et ainsi les transmettre aux troupeaux de façon directe ou indirecte via leurs produits corporels. Ainsi la brucellose chronique est bien tolérée mais reste responsable chez les femelles d'avortements à répétition. La baisse de la fertilité et le risque sanitaire liés à la brucellose chronique chez les bovidés rend

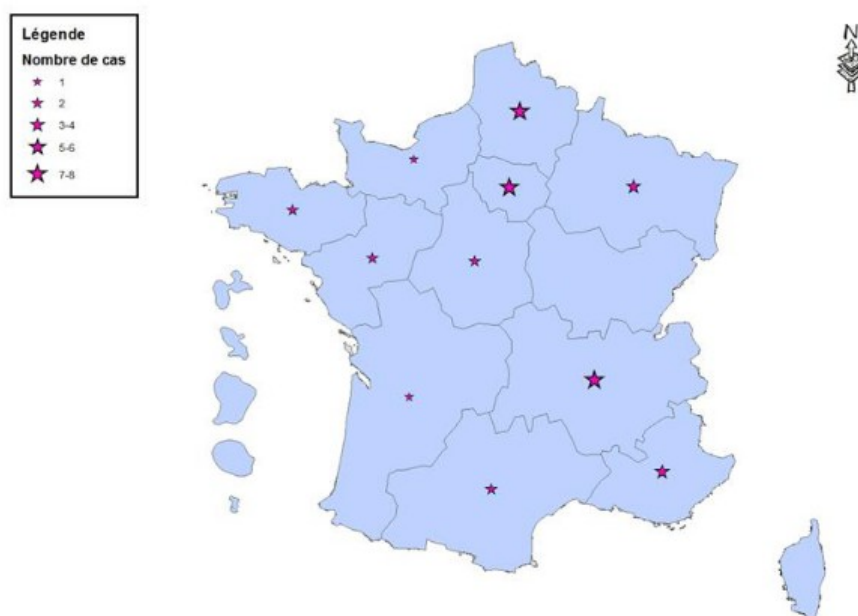
compte de l'impact économique important de cette maladie. (5)

## 2) Française :

### a) *Humaine* :

En France, la surveillance de la brucellose est organisée depuis octobre 2002 par l'action conjointe de l'Institut de Veille Sanitaire, du centre national de référence des *Brucella*, et du laboratoire associé au CNR (CHU de Grenoble), sous la tutelle du ministère de la Santé. Elle constitue donc une maladie à déclaration obligatoire. (5)

En 2019, 39 cas de brucellose humaine en France ont été déclarés et validés. Parmi ces cas, 28 étaient des hommes, les patients étaient âgés de 5 à 91 ans. Ils avaient été déclarés dans 11 régions, dont 8 cas en région Ile-de-France (Illustration 3) (8)



*Illustration 3: Distribution géographique par région de résidence des cas de brucellose humaine déclarés en France en 2019*  
(8)

b) Animale :

Chez les suidés (porcs, sangliers), l'infection a fait sa réapparition en 1993 dans un élevage de porcs en plein air. Depuis plus de 70 foyers ont été relevés, l'infection a pour origine les populations de sangliers sauvages occasionnellement en contact avec les porcs des élevages de plein air.(6)

La France est déclarée comme étant indemne de la brucellose bovine depuis 2005. Cependant en 2012 deux foyers de brucellose bovine ont été déclarés, le premier foyer situé dans le Nord-Pas de Calais dans lequel *Brucella abortus* a été mise en évidence, et avait pour origine l'introduction d'un bovin issu de Belgique. Le second a été confirmé dans une exploitation laitière de Haute-Savoie, suite à un diagnostic conduit après un avortement. Ce foyer du à *B. melitensis*, a été à l'origine de deux malades par consommation de fromage frais. (9)

En septembre 2017, l'ANSES a émis un avis relatif à l'évaluation approfondie et à la réactualisation de mesures de maîtrise du foyer de brucellose chez les bouquetins de Bargy en Haute-Savoie. Cet avis décrit qu'il a été retrouvé 38% d'individus contaminés, entraînant une surveillance accrue de ce cheptel et l'abatage de bouquetins séropositifs. Suite à l'apparition de ce foyer, l'étude de la variabilité génétique de la sensibilité de cette population à la brucellose, et le polymorphisme génétique impliqués dans l'immunité, ont permis de démontrer que ces facteurs sont susceptibles de jouer un rôle important dans la réponse immunitaire face à la brucellose chez les bouquetins. Ceci fait intervenir une surveillance particulière de ce cheptel par des mesures de biosécurité telles que :

- L'arrêt total de l'utilisation de « pierres à sel » qui attirent les bouquetins sur les zones de pâture ;
- L'utilisation de bergers ou de chiens de bergers afin d'éloigner les bouquetins des ruminants ;
- La capture et le dépistage du statut sérologique individuel de chaque animal ;
- Gérer les choix des pâtures au moment de la première mise à l'herbe afin que quelques parcelles à risque fréquentées par les bouquetins ne soient pas utilisées par les troupeaux sur cette période ;

- Empêcher l'accès par les cheptels (ovins et caprins) aux zones-refuges sans valeur zootechnique de la faune sauvage (par exemple à l'aide de clôtures, ou portillon) ;
- L'abatage des animaux au statut sérologique positif ;
- Le contrôle du lait dans les élevages bovins et caprins.

Ces mesures de biosécurité visent à réduire encore le risque de transmission de l'infection brucellique des bouquetins aux ruminants domestiques, et indirectement à l'Homme, risque déjà estimé « quasi-nul » à « minime ». (10)

### 3) Répartition professionnelle :

#### a) Milieu professionnel :

Les animaux qui sont infectés essaient les bactéries dans leur environnement via leurs fécès, dans le lait, ou encore les produits d'avortement chez les femelles infectées. Ceci provoque chez l'Homme une possible contamination par contact direct avec les animaux infectés par voie cutanée, conjonctivale ou aérienne . La contamination peut aussi s'effectuer de manière indirecte, c'est à dire par voie alimentaire après ingestion de lait ou de produits laitiers contaminés par les *Brucella*. Les personnes concernées sont les éleveurs, les fermiers, les vétérinaires, et les travailleurs des abattoirs. La brucellose peut être contractée par les vétérinaires ou les éleveurs, par la manipulation des vaccins animaux, par une piqûre accidentelle d'inoculation transcutanée, ou conjonctivale de la souche vaccinale. (5)

#### b) Laboratoire :

La brucellose peut être contractée accidentellement par le personnel de laboratoire par les manipulations de culture de *Brucella*. (5)

En 2017, un cas de brucellose correspondait à la contamination en laboratoire d'un technicien ayant manipulé les échantillons dans le cadre du diagnostic d'un cas importé. (11)

### III. Caractéristiques microbiologiques des bactéries du genre *Brucella* :

#### A) Classification :

Les *Brucella* sont des bactéries appartenant au groupe alpha des *Proteobacteria* et à la famille des *Brucellaceae*. Le genre *Brucella* fut anciennement divisé en six espèces, ce qui n'est aujourd'hui plus d'actualité. Ces espèces sont séparées en différents biovars en fonction de la spécificité de l'hôte animal infecté par chaque espèce (Tableau 1). En accord avec l'ancienne classification, des noms d'espèces ont été proposés afin de différencier les souches isolées de mammifères marins.(12)

Les agents biologiques pathogènes sont classés en 4 groupes selon leur dangerosité :

- **Groupe 1** : Comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'Homme
- **Groupe 2** : Comprend les agents biologiques pouvant entraîner une maladie chez l'Homme, et constituer un danger pour les travailleurs, leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe généralement une prophylaxie efficace
- **Groupe 3** : Comprend les agents biologiques pouvant entraîner une maladie grave chez l'Homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs, leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace
- **Groupe 4** : Comprend les agents biologiques provoquant des maladies graves chez l'Homme et pouvant constituer un danger sérieux pour les travailleurs, le risque de propagation dans la collectivité est élevé, et il n'existe généralement pas de prophylaxie ou de traitement efficace

Parmi le genre *Brucella* on retrouve quatre espèces *B. abortus*, *B. canis*, *B.*

*melitensis*, et *B. suis* comme faisant partie du groupe 3 de la classification de la liste des agents biologiques pathogènes fixé par l'arrêté du 18 juillet 1994. (12)

Il existe également d'autres espèces de *Brucella*, qui ont été isolées chez des mammifères marins, telles que *Brucella ceti* (isolé chez les dauphins), *Brucella pinnipedialis* (isolé chez les pinnipèdes : phoques, otaries, et morses), *Brucella inopinata* (isolé à partir d'une prothèse mammaire, d'une biopsie pulmonaire), *Brucella microti* (isolé à partir du sol et de campagnols, renards, et sangliers), *Brucella papionis* (isolé chez le babouin), et *Brucella vulpis* (isolé de deux renards). (12)

<b>Espèce</b>	<b>Biovars</b>	<b>Répartition géographique principale</b>	<b>Hôte animal habituel</b>	<b>Pathogénicité chez l'homme</b>
<i>B. abortus</i>	1 à 7, et 9	Ubiquitaire	bovins, ongulés sauvages	modérée
<i>B. melitensis</i>	1 et 3	Bassin méditerranéen, moyen orient	ovins, caprins, ongulés sauvage	forte
<i>B. suis</i>	1 à 3	Amérique, Asie, Océanie	suidés	forte
	2	Europe centrale et occidentale	suidés et lièvres	faible
	4	Amérique du Nord et Russie	rennes	modérée
	5	Russie	rongeurs sauvages	forte
<i>B. canis</i>	-	Ubiquitaire (fréquence élevée en Amérique du Sud)	chiens	faible
<i>B. ovis</i>	-	Bassin méditerranéen	ovins	nulle
<i>B. neotomae</i>	-	Utah (Etats-Unis)	rats du désert	Non connue
<i>B. ceti</i>	-	Océans Atlantique et Pacifique, mer du Nord, mer Méditerranéenne	cétacés (dauphins, baleines, marsouins)	faible
<i>B. pinnipedialis</i>	-	Australie, Oregon (Etats-Unis)	pinnipèdes (phoques, otaries)	Non connue
<i>B. inopinata</i>	2 souches		-	2 cas décrits
<i>B. microti</i>	-	Europe Centrale	canidés sauvages (renards), suidés, rongeurs sauvages	Non connue
<i>B. papionis</i>	2 souches	Texas (Etats-Unis)	babouins	Non connue
<i>B. vulpis</i>	2 souches	Autriche	canidés sauvages (renards)	Non connue

Tableau 1: Caractères épidémiologiques et pouvoir pathogène chez l'Homme des différentes espèces et différents biovars du genre *Brucella*. (2019)

(12)

## B) Morphologie des brucelles :

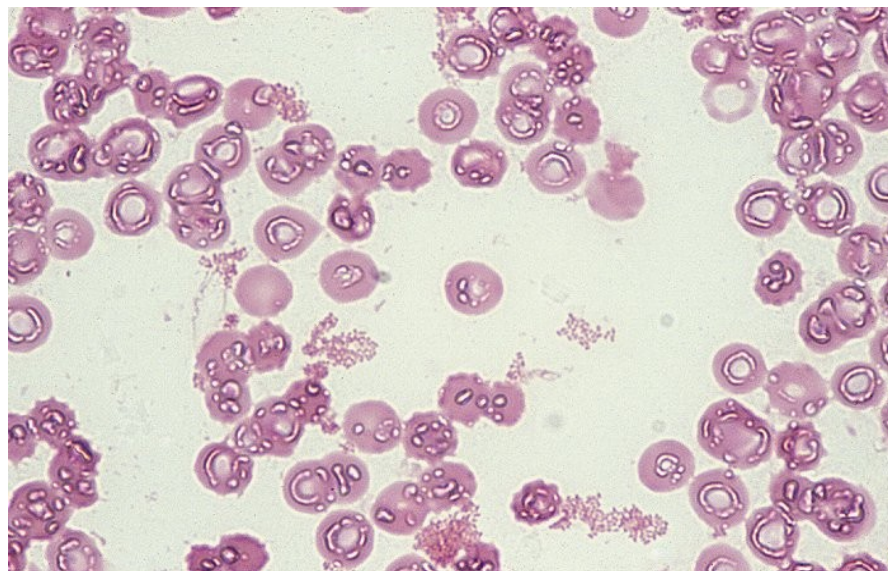
Les *Brucella* sont de petits coccobacilles à Gram négatif non capsulés, non



sporulés et non mobiles. Ceux-ci mesurent 0,6-1,5 µm de long et 0,5-0,7µm de diamètre. Ce sont des bactéries intracellulaires facultatives capables d'infecter beaucoup d'espèces de mammifères à travers le monde. (13)

Les bactéries sont définies selon deux phénotypes de colonies : lisses (S pour smooth) ou rugueuses (R pour rough) par la présence ou non de l'antigène O au sein du lipopolysaccharide (LPS). Le phénotype S est associé à une virulence plus marquée, comme chez *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ceti* et *B. pinnipedialis*. En revanche, *B. ovis*, et *B. canis* expriment naturellement un LPS tronqué de son antigène O, leur conférant un phénotype R et une virulence diminuée. (13) Ce LPS mesurant 9 nm d'épaisseur est l'antigène le plus immunogène des *Brucella*. (12)

Les bactéries du genre *Brucella* sont en partie acido-résistantes et ne sont donc pas décolorées par l'acide acétique qui est utilisé dans la coloration de Ziehl-Nielsen modifiée. De même, lors de la coloration de Gram, la fuschine reste piégée dans les bactéries. Il est donc nécessaire de doubler voire tripler le temps d'action de ce colorant. Les coccobacilles se présentent alors comme des bactéries à Gram négatif, avec un aspect rouge sur fond bleu. (13)



*Illustration 4: Brucella sp (coloration de Gram, hémoculture) de l'université de Franche-Comté, Besançon*  
(14)

### C) Infectiosité et risque biologique :

Les *Brucella* sont des bactéries intracellulaires facultatives infectant les macrophages mais également les cellules épithéliales. Le LPS des souches de phénotype S est moins toxique pour les macrophages, moins pyrogène, et induit moins de sécrétion d'interferon- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$  que celui des entérobactéries. Les *Brucella* peuvent cependant échapper au système immunitaire de l'hôte. Leur multiplication s'effectue dans un autophagosome après inhibition de la fusion phagolysosomiale. La vacuole de phagocytose s'acidifie pour induire l'expression d'un système de sécrétion de type IV (VirB), essentiel à la virulence des bactéries. Ce système permet la sécrétion de complexes nucléoprotéiques ou protéiques à travers la membrane des bactéries à Gram négatif. Ceci aboutit à une niche de réplication dans des compartiments membranaires dérivés du réticulum endoplasmique. (12)

Les *Brucella* sont considérées comme des agents potentiels de guerre bactériologique, ce qui a été expérimenté par les Etats-Unis dès 1954 avec *Brucella suis*. En France, excepté *B. ovis*, elles sont classées dans la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L.5139-1 du code de santé publique (Arrêté du 30 Avril 2012). Leur manipulation est soumise à une réglementation stricte contrôlée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) obligeant à travailler ces microorganismes dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3. Les consignes d'équipement de protection individuelle à respecter sont les suivantes :

- Le port d'une blouse à retirer après manipulation qui reste dans le sas ou utilisation d'une blouse jetable
- Le port de gants, de coiffe, et de surbottes
- Le port de masque et de lunettes est optionnel et dépend de la manipulation
- Le port de chaussures différentes

De nouvelles problématiques en lien avec la sécurité biologique sont soulevées, puisque l'utilisation de la spectrométrie de masse pour l'identification de la bactérie doit inclure dans le protocole, une étape d'inactivation permettant d'assurer la

sécurité des opérateurs et de l'environnement, tout en préservant les marqueurs utilisés pour l'identification de *Brucella*. (12)

La possible utilisation des brucelles comme arme biologique tient à deux choses :

- (i) Le fait qu'une transmission aérosolisée est possible comme cela a été rapporté au cours des contaminations humaines lors d'avortements d'animaux infectés ou dans les cas d'infections aérosolisées dans les laboratoires.
- (ii) Les *Brucella* sont qualifiées d'« agents incapacitants ». Leur pouvoir infectieux est élevé, notamment par voie aérienne puisque 10 à 100 bactéries suffisent à constituer un aérosol infectant pour l'Homme.

Heureusement, ces bactéries ont une utilisation malveillante limitée grâce à certains facteurs :

- (i) Une incubation variable et longue de la maladie,
- (ii) Un grand nombre de patients exposés peuvent demeurer asymptomatiques,
- (iii) Une quasi-absence de transmission inter-humaine
- (iv) L'existence d'un traitement antibiotique efficace

Ce dernier facteur prenant en compte le traitement antibiotique peut être mis en défaut par l'utilisation de souches résistantes aux antibiotiques actifs. De plus, il n'existe toujours pas de vaccin anti-*Brucella* efficace et bien toléré chez l'Homme. (12)

## D) Sensibilité et résistance aux antibiotiques :

### 1) Sensibilité :

#### a) In vitro:

Les *Brucella* sont sensibles à certaines bêta-lactamines : les pénicillines A, l'imipénème, et les céphalosporines de troisième génération (cefotaxime et ceftriaxone). Les macrolides agissent modérément, mais l'azithromycine reste le plus

actif d'entre eux (CMI<sub>90</sub> = 0,5-1 mg/L). Le chloramphénicol est peu actif. En fonction des souches testées, le cotrimoxazole possède une activité variable. Les antibiotiques les plus actifs sont les aminosides (streptomycine et gentamicine), les tétracyclines, la rifampicine, et les fluoroquinolones. Ils possèdent à eux seuls une activité bactéricide *in vitro*.

Il existe des résistances acquises à ces antibiotiques chez *Brucella*, qui restent rares, mais progressent notamment pour la rifampicine. (12)

#### b) Les modèles animaux :

La souris, ou le cobaye infectés par *B. abortus*, ont permis de montrer l'efficacité des aminosides (streptomycine), des tétracyclines et de la rifampicine *in vivo*, de même que la supériorité de leur association par rapport à une monothérapie. Par contre, les fluoroquinolones sont inactives chez l'animal en monothérapie. (12)

#### c) In vivo :

Les études sont peu nombreuses, et anciennes. Elles ont montré la faible activité intracellulaire de la streptomycine, comparée à son activité extracellulaire. Cette faible activité vis-à-vis des *Brucella* intracellulaires pourrait être liée à l'inactivation de l'antibiotique par l'acidité existant dans l'autophagosome, compartiment de multiplication des bactéries.

Au contraire la rifampicine conserve une activité intracellulaire bactéricide. (12)

## 2) Résistances :

Actuellement la détermination de la sensibilité de *Brucella* spp. aux antibiotiques n'est pas recommandée.

Les souches sont très majoritairement sensibles aux antibiotiques couramment prescrits contre cette infection et étant donné qu'un fort risque de contamination du personnel de laboratoire lors de cette manipulation existe, il est formellement contre-indiqué d'effectuer cette recherche.

Si un antibiogramme doit tout de même être réalisé, il doit l'être exclusivement par le CNR *Brucella* devant un cas particulier.

Les résistances acquises des brucelles aux antibiotiques sont exceptionnelles et de mécanismes mal connus.

Une surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des *Brucella* est réalisée dans les laboratoires de référence pour veiller à l'efficacité des traitements recommandés au cours des brucelloses.

Jusqu'à présent, l'association médicamenteuse doxycycline-streptomycine permettait d'obtenir la meilleure réponse au traitement et le taux de rechute le plus faible (environ 5 à 7%). (12)

### E) Habitat et présence de *Brucella* dans l'environnement :

Les *Brucella* sont retrouvées chez les animaux jouant le rôle de réservoir mais peuvent également être présentes dans les produits alimentaires et l'environnement. Ces animaux émettent des substances ou produits corporels eux-mêmes contaminés pouvant renfermer des *Brucella* qui peuvent survivre et contaminer l'environnement. Les exemples de substances potentiellement contaminées sont :

- Le contenu de l'utérus gravide
- Les sécrétions vaginales
- L'urine
- Le colostrum
- Le lait
- Le sperme
- Les produits de suppuration,
- Les fécès (14)

La survie des *Brucella* est conditionnée par l'humidité et les basses températures. Elles peuvent survivre plusieurs mois dans l'eau à 4-8°C, 2,5 ans à 0°C et plusieurs années dans des tissus ou en milieux congelés. Et parfois plus de 60 jours sur un sol humide et plus de 144 jours à 20°C. (14)

Dans les substances d'origine animale, les bactéries survivent jusqu'à 30 jours

dans l'urine, 75 jours dans les avortons, 120 jours dans les déjections, et plus de 200 jours dans les exsudats utérins. Ainsi la contamination de l'environnement par les *Brucella* peut jouer un rôle important dans la propagation de la maladie chez les animaux.(14)

#### IV. Maladie chez l'animal :

##### A) Pathogénie et réponse immune chez les petits ruminants domestiques :

*Brucella melitensis* est une bactérie intracellulaire facultative du système réticulo-endothélial, qui se multiplie au sein des macrophages, des cellules dendritiques ou encore des cellules trophoblastiques du placenta. La virulence de *Brucella* va dépendre de deux facteurs :

- La souche
- La dose d'inoculation.

Selon l'espèce hôte et l'individu, la pathogénie sera différente. Cela implique qu'en conséquence, tous les degrés d'atteinte intermédiaires peuvent être observés sur le terrain, allant de l'absence de signes cliniques à une infection aiguë et sévère. (15)

##### 1) Les phases de l'infection à *Brucella* :

La voie d'entrée la plus fréquente chez les ruminants, reste l'entrée de la bactérie par la muqueuse de l'oropharynx, mais la bactérie peut aussi passer par les voies respiratoires supérieures ou encore par la voie vénérienne. (15)

Trois phases cliniques se distinguent pour l'infection à *Brucella* :

- Une période d'incubation arrivant avant les premiers signes cliniques
- Une période d'infection aiguë, période où la bactérie se multiplie, durant laquelle les signes cliniques, hématologiques et les lésions tissulaires sont observables,
- Une période d'infection chronique, où les signes cliniques deviennent intermittents suite à la mise en place d'une hypersensibilité de type IV (hypersensibilité retardée) faisant intervenir les lymphocytes de type T qui après un contact avec un antigène spécifique, s'activent par exposition

continue. Ces lymphocytes entraînent des lésions tissulaires, ou une activité cellulaire de ces cellules qui s'activent : les éosinophiles, les monocytes, les macrophages, les neutrophiles, ou les lymphocytes Natural Killer (15)

a) Physiopathologie de la Brucellose :

La durée de chaque phase de la brucellose est hôte-dépendante, ce qui rend cette maladie changeante selon les espèces. Au cours de l'évolution clinique, la physiopathologie de la maladie consiste en deux étapes successives, une période primaire et une période secondaire. (15)

i. La période primaire :

La période primaire de la physiopathologie brucellique suit la contamination, et se divise en trois étapes successives :

- Initialement, cette première étape concerne les brucelles, qui ont pour but de se multiplier dans les nœuds lymphatiques, se situant à la porte d'entrée de l'infection. L'étape de la multiplication dépend de l'immunité cellulaire de l'hôte développée au cours de sa vie mais également contre les nouvelles introductions de bactéries. Les brucelles vont subir la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les cellules dendritiques. Au sein de ces deux derniers, *Brucella*, réussit à résister aux mécanismes de digestion, faisant intervenir la fusion phagolysosomale, pour pouvoir se réfugier à l'intérieur du réticulum endoplasmique, rendant possible la multiplication de ces bactéries. (15)
- Après quelques jours, voire quelques semaines, la dissémination des brucelles s'effectue par voie lymphatique et/ou sanguine, à travers le système réticulo-endothélial. Chez les petits ruminants, la bactériémie se détecte dix à vingt jours après la contamination, et peut durer de trente jours à plus de deux mois. Cette période est plus courte que celle chez l'homme, ce qui exclut le diagnostic par hémoculture pour ces petits ruminants. (15)



- Enfin, la dernière étape de cette période primaire marque la multiplication des bactéries de façon focalisée, c'est à dire au niveau des tissus lymphoïdes (nœuds lymphatiques de la sphère génitale, mammaire et parfois de la rate), l'utérus et le placenta chez les femelles gravides, les organes génitaux externes des mâles ainsi que leurs annexes, les glandes mammaires, les bourses séreuses et synoviales, et certaines articulations. Parfois, ces localisations peuvent être associées à des manifestations cliniques caractéristiques de la brucellose aiguë telles qu'un avortement chez les femelles gravides arrivées au tiers de la gestation, des orchites, épидидymites, arthrites, mammites subcliniques, etc. Ces manifestations expliquent les sources d'excrétion des brucelles, mais aussi la dissémination des bactéries dans l'environnement, par les sécrétions des organes génitaux, des annexes foetales, du sperme, du lait... Il existe malgré tout certains animaux qui sont porteurs asymptomatiques pouvant également être sécréteurs de *Brucella* et participants ainsi à la dissémination de la maladie. (15)

#### ii. La période secondaire :

Cette période est caractérisée par la résistance plus ou moins importante à l'immunité cellulaire de l'hôte, ce qui entraîne une élimination ou une persistance des brucelles chez l'animal. Effectivement, ces bactéries peuvent échapper au système immunitaire en se cachant dans certains sites privilégiés durant plusieurs années, tels que les nœuds lymphatiques pour ensuite se réactiver. Cette situation se produit à chaque gestation et en résulte un avortement et/ou induit une excrétion bacillaire lors de la mise bas. Ceci se produit durant l'infection placentaire, par une placentite exsudative et nécrotique, interrompant les échanges entre la mère et son fœtus. Des hygromas ou encore des arthrites chroniques peuvent se manifester lors de la persistance des bactéries dans les bourses séreuses et les articulations. (15)

Les ovins ont une capacité à pouvoir se débarrasser spontanément des brucelles par le phénomène de l'auto-stérilisation : c'est la capacité à se débarrasser spontanément des microorganismes, par exemple par accumulation d'eau oxygénée dans les cellules des microorganismes. Un grand nombre de brebis pourraient générer de l'auto-stérilisation dans un délai compris entre 6 mois et un an, cela pendant la période de repos sexuel ce qui permettrait de limiter l'excrétion de

bactéries au sein d'un troupeau et dans l'environnement. Cette situation ne se traduit pas par une stérilisation définitive pour tous les individus, certains d'entre eux développeront des récurrences de façon exceptionnelle. Cette excrétion de brucelles serait limitée à une période de deux mois après la mise bas, contrairement à ce qui est observé chez les chèvres qui sont malheureusement infectées durant une majeure partie de leur vie, malgré des signes cliniques peu présents, voire absents. La contamination s'effectue par le passage des brucelles dans le lait, entraînant une inoculation chez les petits allaités. La contamination également est favorisée par la multiplication de *B. melitensis* dans les mamelles. Néanmoins, le développement de mammites n'est pas aussi courant. Finalement, cette contamination du lait, entraîne chez les producteurs laitiers une perte de revenus non négligeable. (15)

## 2) La réponse immune :

L'infection causée par *Brucella*, est responsable de l'intervention de l'immunité cellulaire et humorale. Plusieurs éléments peuvent faire varier l'ampleur et la durée de l'infection, simplement par la virulence de la souche, la dose inoculatrice, l'espèce hôte, le sexe, le statut reproducteur mais également le statut immunitaire de l'individu. Le genre *Brucella* a constitué depuis longtemps un modèle d'étude pour l'immunité, qui est mise en place contre les agents bactériens intracellulaires.

Ce qui a permis de démontrer que la résistance de l'hôte face à ces bactéries, repose principalement sur l'immunité cellulaire. (15)

### a) L'immunité innée :

Les macrophages et les cellules dendritiques sont les cellules intervenant prioritairement dans la phagocytose des bactéries, et qui les éliminent. Les récepteurs Toll ou Toll Like Receptors (TLRs) de ces cellules, après contact avec leur ligand bactérien, entraînent la production de cytokines pro-inflammatoires, initiant la réponse immunitaire spécifique. Dans cette immunité innée, les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont les premières cellules recrutées sur le site de l'infection, mettant en jeu premièrement la phagocytose puis la fusion du

phagosome, accompagnée de granules antimicrobiens. Ces cellules éliminent un nombre important de bactéries, et ont pour avantage d'empêcher la multiplication des bactéries contrairement aux macrophages ainsi que les cellules dendritiques. Parmi les lymphocytes, les lymphocytes type NK (Naturel Killer), mettent en jeu la réponse immunitaire spécifique par la production anticipée de l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ). (15)

b) Immunité spécifique acquise :

Cette immunité se scinde en deux parties complémentaires, premièrement cellulaire puis humorale. Elle est mise en jeu suite à l'activation de l'immunité innée, avec pour objectif de développer la défense de l'animal ainsi que la maintenir de façon durable et spécifique, dirigée vers les *brucelles*. Le type de cette réponse est principalement cellulaire Th1, avec sécrétion d' IFN $\gamma$  surtout par les lymphocytes T de type CD4, qui reconnaissent de façon spécifique les antigènes de *Brucella*. L'action de cette cytokine est primordiale dans la réponse immunitaire spécifique, car elle permet d'activer des mécanismes bactéricides venant des macrophages, par la sécrétion de molécules de co-stimulation au sein des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), caractéristiques de l'immunité spécifique acquise, en stimulant les lymphocytes cytotoxiques, et en induisant l'apoptose de macrophages infectés.

En ce qui concerne la partie humorale de l'immunité spécifique, les acteurs principaux sont les lymphocytes B, qui initient la production d'anticorps anti-*Brucella*. Les anticorps permettent d'accélérer la phagocytose, par l'opsonisation qui permet l'activation du complément, et permettent également une cytotoxicité anticorps-dépendante. Leur action se fait principalement sur les brucelles extra-cellulaires, au contraire l'action reste très rare sur les bactéries intra-cellulaires. Ainsi le rôle de la partie humorale de l'immunité spécifique contre les *Brucella*, est peu protectrice, et limitée. Deux à quatre semaines après l'exposition aux bactéries, l'intensité de la réponse humorale est très variable : dans les cas de placentite, associée ou non à un avortement, la réponse sérologique est importante, elle sera modérée dans le cadre d'une atteinte des mamelles, et faible, voire inexistante si uniquement des nœuds lymphatiques sont concernés par la multiplication bactérienne. (15)

c) Les stratégies d'échappement à la réponse immunitaire :

Les brucelles ont, avec le temps, développé différentes stratégies afin d'échapper à la réponse immunitaire innée immédiate ainsi qu'à la réponse tardive spécifique. *Brucella*,

est capable d'envahir les macrophages, ainsi que les cellules dendritiques afin de survivre et se multiplier au sein de son hôte pour y vivre sur le long terme. De ce fait, les brucelles, interfèrent avec les mécanismes de présentation d'antigènes, mais également lors de la lyse des brucelles altérant la reconnaissance des motifs bactériens par les TLR. Ceci va permettre aux bactéries de se répliquer avant même la réplication cellulaire de type Th1. Les caractéristiques individuelles de l'hôte (telles que le sexe, le stade de gestation, l'exposition ancienne ou non aux brucelles), de l'évolution physiopathologique de la maladie, de la souche de *Brucella* en cause, la dose inoculatrice, ainsi que le statut de l'individu induisent une réponse sérologique différente selon l'hôte. Ainsi, dans le cas d'une infection sévère, une réponse sérologique forte sera observée, durant plus de 30 semaines chez les brebis gestantes, mais aucune étude n'a malheureusement évalué la fiabilité de ces tests sérologiques sur de plus longues durées. C'est pourquoi il n'est pas possible d'écarter que les individus étant porteurs de *Brucella*, puissent entretenir des niveaux d'anticorps circulants inférieurs aux seuils de détection minimaux des tests sérologiques habituellement utilisés. Ceci a déjà été décrit chez des agneaux contaminés lors de la naissance : un phénomène d'immunotolérance a été suspecté en isolant *Brucella melitensis* chez de jeunes individus séronégatifs. (15)

B) Manifestations cliniques chez l'animal :

Chez les ruminants, une infection par *Brucella abortus* ou par *Brucella melitensis* touche principalement l'appareil reproducteur de l'animal. Des signes moins spécifiques peuvent apparaître chez les animaux infectés, tels que des hygromas, de l'arthrite, spondylite ou encore des mammites chez les caprins. Dans le cas où la brucellose est introduite chez un troupeau indemne, celle-ci se propage rapidement, entraînant un fort taux d'avortements durant la première année, et

seulement quelques cas sporadiques les années suivantes.

Quelques études ont réussi à évaluer la perte en lait, suite à des infections par les brucelles. C'est l'exemple de l'étude réalisée par Alton en 1985 chez des chèvres contaminées par *Brucella melitensis*, montrant une perte en lait de l'ordre de 67%. Puis l'International Livestock Research Institute (ILRI) en 2012 a estimé une diminution de production laitière chez les bovins de l'ordre de 20 à 25%. (16)

### 1) Exemple de brucellose aiguë chez les petits ruminants :

L' infection par *B. melitensis* chez les petits ruminants, se manifeste par des signes cliniques très variables, mais touche particulièrement les femelles gestantes. Le risque principal est une interruption de la gestation avant le terme, ou les femelles donnent naissance à une progéniture faible. Il existe également un risque de rétention placentaire, après l'avortement ainsi qu'une diminution de la production laitière chez la femelle. Ainsi les avortements et les infections utérines affectent leur fertilité. Dans les cas d'avortements liés à la brucellose, chez les ovins et les caprins, l'avortement se produit en fin de gestation plutôt vers le 3e et 4e mois (sur une période d'environ 5 mois de gestation selon les espèces). Chez les mâles, l'infection se propage au niveau des testicules et de l'épididyme, ce qui provoque une orchite et une épididymite pouvant aller jusqu'à l'infertilité. (15,16)

### 2) La brucellose chronique chez l'animal :

La brucellose chronique se manifeste à la suite d'un premier avortement. Il existe une autre forme chronique de la brucellose, qui cette fois ci touche les individus non gestants, mais exposés à de faibles doses inocultrices. Ceux-ci développeront des infections qui seront totalement contrôlées par le système immunitaire. Avec le temps, certains d'entre eux deviendront des porteurs latents pouvant excréter la bactérie lors d'une situation anxiogène. C'est l'exemple des caprins qui hébergent les bactéries au niveau des tissus mammaires ainsi que des ganglions satellites, entraînant une sécrétion de brucelles lors de la lactation.

Cette forme chronique concerne également les mâles qui sécréteront des brucelles,

sans atteinte de l'état général, mais développeront une orchite ou une épидидymite.  
(15)

### 3) Lésions macroscopiques et microscopiques :

Lors de l'autopsie de certains individus, il est constaté l'existence de lésions granulomateuses inflammatoires au niveau de l'appareil reproducteur, des mamelles, au niveau des nœuds lymphatiques supra-mammaires, ainsi que d'autres tissus lymphoïdes (rates...), et parfois au niveau de certaines articulations ainsi que les membranes synoviales. Des nécroses ont été observées sur certaines parties du corps comme sur les organes génitaux de ces individus. L'examen post-mortem du foetus laisse paraître un aspect auto-lysé, normal ou avec un excès de liquide séro-hémorragique dans les cavités naturelles, ou encore une rate ou foie de taille augmentée. Chez les femelles gestantes, des cas de placentites ont été rapportés avec de l'oedème et/ou de la nécrose des cotylédons et/ou un amincissement du placenta inter-cotylédonnaire. (15)

### C) Diagnostic de la brucellose animale :

#### 1) Diagnostic clinique chez l'animal :

Dans le cas d'une suspicion de brucellose, à la suite de flambée d'avortements observés dans un troupeau, le diagnostic doit être établi. Chez les mâles les signes d'alertes sont l'orchite et l'épididymite, comme la mort d'un individu 48h après sa naissance avec des symptômes d'anoxie et un taux élevé de rétentions placentaires. Ces signes cliniques n'étant pas spécifiques, les examens complémentaires sont donc indispensables. (17)

#### 2) Diagnostic expérimental chez l'animal :

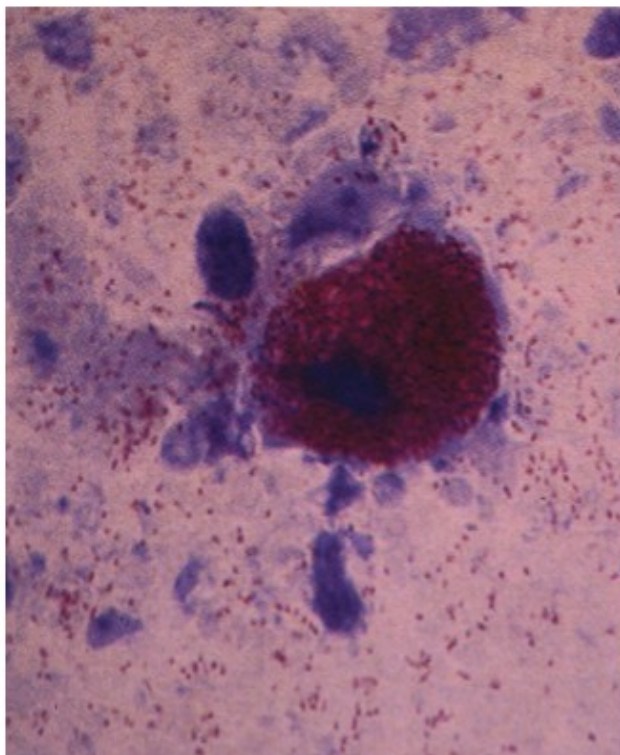
a) Le diagnostic direct :

Chez les femelles gestantes, un écouvillon sera utilisé pour prélever un échantillon au niveau du col de l'utérus et sur les carcasses des mâles, des testicules en cas d'orchites seront prélevés mais également la rate, et les nœuds lymphatiques adjacents. Ces prélèvements s'effectuent de manière stérile et sont placés dans des contenants hermétiques et stériles.

i. La coloration de Stamp :

La coloration de Stamp se réalise à partir d'échantillons prélevés chez les individus comme décrit ci-dessus, et déposés sur une lame qui sera ensuite colorée par la coloration de Stamp (Illustration 5).

Cependant il existe des bactéries ayant des ressemblances avec *B. melitensis*, présents chez les petits mammifères comme *B. ovis*, *Chlamydia psittaci* ou *Coxiella burnetti*. Ces ressemblances peuvent donc induire en erreur pour le diagnostic de la brucellose. Ces considérations expliquent le fait que la culture supplante la simple recherche par microscopie des bactéries au sein des tissus. (15)



*Illustration 5: Observation microscopique de Brucella après coloration de Stamp de Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup (15)*

*ii. La culture de Brucella :*

La culture de la bactérie constitue le diagnostic de certitude. L'inconvénient de *Brucella*, est que la culture est lente, et nécessite un milieu de croissance exigeant : le milieu gélosé Mueller Hinton, enrichi au sang. L'utilisation d'une atmosphère contenant 5 à 10% de CO<sub>2</sub> est recommandée afin de favoriser leur développement. La température d'incubation idéale atteint 35°C. Les *Brucella* en primo-culture nécessitent un temps d'incubation d'environ deux à trois semaines. De manière à réduire ce temps, aujourd'hui il est possible d'utiliser des systèmes automatisés pour les hémocultures donnant un temps d'incubation de moins de cinq jours.

C'est pour cela qu'il est nécessaire d'avoir des milieux sélectifs. Malgré ces mesures, il est fréquent que les prélèvements de *Brucella* soient contaminés par d'autres bactéries présentes dans le milieu de l'individu en question. C'est pourquoi il est parfois nécessaire d'avoir recours à des antibiotiques pour inhiber la croissance de



certaines bactéries et permettre la croissance uniquement de *Brucella*.

La sensibilité de la culture dépend de nombreux facteurs (le type de l'échantillon prélevé, le nombre, la viabilité de *Brucella* qu'il abrite, la présence d'autres bactéries...). Cette méthode est longue et fastidieuse. C'est pourquoi la méthode de la PCR peut être indiquée. De plus certains prélèvements sont plus pauvres en bactéries que d'autres, comme le lait, qui nécessite parfois une centrifugation, augmentant les chances de détection des bactéries. En général, après 2 à 3 jours d'incubation, des colonies de *Brucella* commencent à être visibles sur le milieu de culture. Après le 4<sup>ème</sup> jour, les colonies mesurent entre 1 et 2 mm de diamètre, et ont une surface lisse ou rugueuse selon leurs propriétés. Afin de déclarer une culture comme négative, il faudra attendre entre 8 à 10 jours de culture sans colonies. Cette analyse s'effectue en laboratoire de biosécurité de niveau 3 du fait du caractère zoonotique de la brucellose. (15,17)

### iii. Méthode PCR :

Les techniques moléculaires sont du ressort du CNR des *Brucella* en dupliquant les séquences d'ADN caractéristiques, telles que la séquence d'insertion IS711, qui est une bonne cible fréquemment utilisée car elle est spécifique de l'espèce de *Brucella* et permet également d'augmenter la sensibilité de la détection. D'autres séquences ont été utilisées, comme des gènes codant pour Bscp31, une protéine de la membrane externe ou Omp2a-Omp2b ainsi que la perosamine synthétase Per. Les échantillons se font à partir de sang ou de sérum, cette technique permet de mettre en évidence les brucelles présentes dans l'échantillon suspecté, même si les brucelles sont en faible quantité ou mortes. (18)

Cette technique peut s'utiliser en cas de faible nombre de bactéries, ou en fonction de leur viabilité mais aussi du nombre de contaminants. La méthode PCR est rapide, mais onéreuse pour une utilisation sur un troupeau. Mais elle permet également de retrouver l'espèce et le biovar permettant d'identifier la source d'infection du troupeau. (17)

### b) Diagnostic indirect :

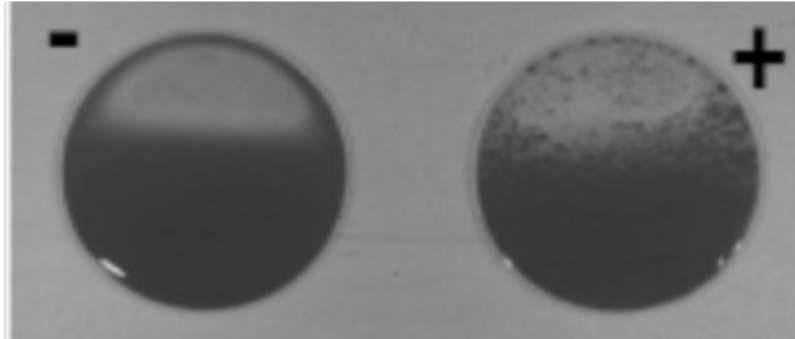
Le diagnostic indirect s'effectue principalement à partir d'échantillons de

placenta, de sécrétions vaginales, et de lait. L'échantillon dépendra des différents signes cliniques de l'individu.

*i. Technique de l'EAT (Technique au Rose Bengale) :*

Cette technique détecte de façon précoce l'infection, mais est peu spécifique avec quelques résultats faussement positifs. Elle est utilisée dans la surveillance des troupeaux afin de détecter une éventuelle infection, notamment dans les troupeaux d'ovins et de caprins. En cas de réponse positive au test, cette technique doit être suivie par une seconde méthode afin de confirmer le diagnostic, car il existe des réactions positives dans des cheptels indemnes. (15,17)

La technique de l'EAT repose sur la détection d'anticorps de type IgM qui sont produits précocement après l'infection, voire d'IgG1 présents dans le sérum à tester, qui sont dirigés contre le LPS de *Brucella*. La réaction positive fait suite à la mise en contact de ces anticorps avec un échantillon d'antigène brucellique dans un milieu acide tamponné, coloré au Rose de Bengale. Le résultat positif se caractérise par une agglutination de l'antigène et des anticorps anti-brucellique. (17)



*Illustration 6: Coloration d'un sérum à tester au Rose Bengale : Résultat négatif à gauche, positif à droite (agglutination) de Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup*

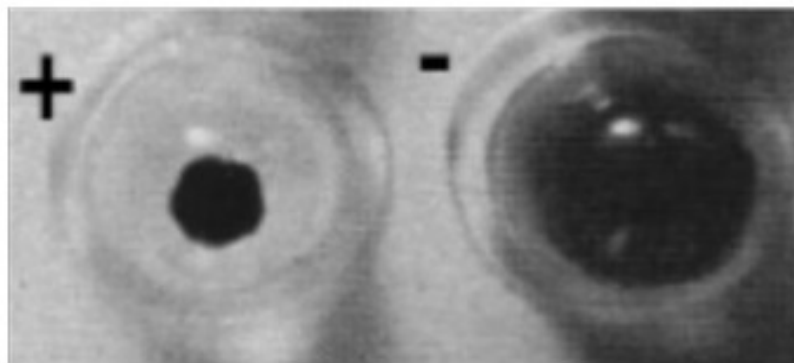
(15)

*ii. Test de fixation au complément :*

Cette technique permet une détection de l'infection plus tardive que la technique précédente, spécifiquement la détection d'anticorps de type IgG1, présents lors de phases anciennes d'infections. Cette technique met en évidence la formation

de complexes anticorps-antigènes, qui, grâce à l'ajout du complément se fixe aux immuns-complexes et s'active.

Une solution contenant des hématies de moutons est ajoutée au sérum à tester, dans le cas où le sérum contient des immuns-complexes et que le complément s'active il n'y aura pas de lyse des hématies. Dans le cas contraire, si le sérum ne contient pas d'anticorps, il n'y a pas d'immuns-complexes, et donc pas de fixation du complément. L'hémolyse se produit, et le résultat est négatif. Un résultat positif se manifeste par la formation d'un complexe rassemblant les hématies dans le sérum (Illustration 7). (15,17)



*Illustration 7: Test de fixation au complément d'un sérum à tester :  
Résultat positif à gauche, négatif à droite (hémolyse) de Véronique  
Guérin-Faublée, Vetagro Sup  
(15)*

Sur le terrain ce test, est légèrement moins sensible (88,6%) que le test au Rose Bengale (92,1%). De plus sa mise en œuvre est plus complexe que le test précédent, à cause de la variabilité des principes actifs mais également avec certains sérums qui inhibent la capacité d'activation du complément. Ce test est utilisé avec le test au Rose Bengale dans les cas où un diagnostic individuel est nécessaire, comme lorsqu'un troupeau est infecté, et qu'un abatage sélectif est requis. Ainsi l'utilisation de ces deux tests permet l'identification plus facile des cheptels infectés. (15)

### *iii. L'ELISA indirecte :*

L'ELISA est une méthode très sensible, mais peu spécifique sur les troupeaux

ayant été vaccinés. Elle fait intervenir un antigène connu (LPS de type S de *Brucella abortus*) qui est appliqué sur une surface, ensuite recouverte du sérum à tester. Les anticorps anti-*Brucella*, vont se fixer aux antigènes, qui seront mis en évidence par de seconds anticorps couplés à une enzyme, formant un complexe anticorps-enzyme, se liant aux anticorps du sérum à tester. Une solution contenant un substrat, réactif de l'enzyme à activer, permet d'émettre un signal fluorescent, révélant une réaction positive.

La méthode peut induire un faux positif, car l'utilisation du LPS de type S, est également retrouvé chez d'autres bactéries, telles que *Yersinia enterocolitica* O:9, *Escherichia coli* O157, ou encore *Francisella tularensis*. (17)

#### iv. Technique de l'épreuve cutanée allergique (ECA) :

Ce test met en jeu la voie cellulaire de la réponse immunitaire de l'hôte. Sensible et très spécifique, ce test nécessite certaines conditions avant utilisation :

- Ne pas effectuer le test sur un individu ayant été vacciné contre la brucellose dans les 6 mois précédents le test
- Ne pas effectuer le test sur un animal ayant été malade ou ayant avorté dans les 6 mois précédents le test
- Un délai de 6 semaines doit être respecté entre deux ECA, afin d'éviter toute interaction

Dans le cadre d'un diagnostic via la méthode de l'ECA chez les ovins et les caprins, l'injection de la brucelline se réalise dans la paupière inférieure en sous cutanée. Dans le cas où le diagnostic doit être réalisé chez un bovin, l'injection s'effectue en intradermique, entre les deux derniers tiers de l'encolure de l'hôte. Il est nécessaire de vérifier la zone de l'injection avant la réalisation de l'acte afin d'écartier tout nodule, écartier par palpations. Les poils de l'individu doivent être coupés, afin de libérer la zone de l'injection. Chez les bovins, il est nécessaire de mesurer le pli de peau initial avec un cutimètre, pour ensuite réaliser l'injection. L'individu recevra une dose de 0,1mL de brucelline en intradermique stricte. Une petite papule doit être visible, si elle n'est pas visible, l'injection est imparfaite et doit être refaite à un autre endroit, jusqu'à ce qu'elle laisse apparaître une papule.

La lecture de ce test s'effectue au bout de 72 heures chez les bovins, et au bout de 48 heures chez les petits ruminants. Ce résultat doit être lu par un vétérinaire ayant réalisé l'injection. Dans le cas où il y aurait une impossibilité de lecture par celui-ci, une autre personne peut lire le résultat de ce test en s'étant informé des modalités de repérage du site de l'injection.

Chez les bovins, cliniquement il est possible de voir un oedème, un exsudat, une nécrose, de la douleur, voire de l'inflammation. Avec l'aide du cutimètre, il est comparé la mesure avant l'injection et après l'injection. Si l'épaisseur augmente d'au moins deux millimètres, la réaction est considérée comme positive.

Chez les petits ruminants, la réaction positive s'effectue par lecture visuelle. L'oedème doit être significatif, au niveau de la paupière inférieure concernée. Dans le cas où l'oedème n'est pas présent il faudra vérifier les deux paupières, si une différence de plus de 2 millimètre est visible par rapport à la paupière non testée, au bout de 48 heures, la réaction est considérée comme positive. (17)

#### v. Le ring test (RT) :

Ce test est utilisé en dépistage du lait des cheptels domestiques, et met en avant l'excrétion des brucelles dans le lait animal, qui s'effectue chez les individus contaminés, avec la plupart du temps, une présence d'anticorps.

Le RT ou test de l'anneau est réalisé en prélevant un échantillon du lait à tester, puis est mélangé à un antigène coloré. Dans le cas où l'échantillon à tester contient des anticorps anti-*Brucella*, une agglutination se produit et forme un complexe anticorps-antigène et forme un anneau de couleur bleu en surface. La technique du RT peut être accélérée par une incubation du mélange à 37°C, mais nécessitant 30 minutes pour avoir le résultat.

Le RT est réalisé habituellement sur un lait de mélange du troupeau de plus de 100 vaches, ce qui rend le test moins sensible. Si le résultat est positif, un examen

sérologique doit être réalisé sur chaque individu du cheptel. (18)

## V. Maladie chez l'Homme :

### A) Les modes de contamination :

La brucellose est une zoonose. La contamination par les brucelles chez l'homme s'opère de différentes manières. Deux modes de contamination existent, (i) par contact direct avec un environnement souillé, ou (ii) par contact indirect via ingestion d'aliments contaminés.

#### 1) Contamination par contact direct :

Les *Brucella* pénètrent dans l'organisme par la voie cutanée (excoriations), la muqueuse digestive (manuportage), la voie aéroportée ou encore conjonctivale. Chez les animaux, les produits corporels issus du tractus génital des femelles contiennent énormément de brucelles, plus que les urines ou les fécès. Certains animaux sont porteurs asymptomatiques de la bactérie et vont contribuer à contaminer l'Homme. Ainsi, les chèvres qui sont porteuses asymptomatiques peuvent excréter des brucelles dans leur lait.

Cette contamination directe concerne généralement le monde professionnel, et touche notamment les éleveurs, les vétérinaires, les employés d'abattoirs, par contact avec les animaux infectés.

En France, le mode de contamination prédominant s'effectue néanmoins par la manipulation de prélèvements dans les laboratoires d'analyses. (18)

#### 2) Contamination par contact indirect :

La contamination indirecte s'effectue par l'ingestion de denrées alimentaires d'origine animale souillées telles que le lait non pasteurisé, les produits dérivés comme le fromage cru et les fromages frais au lait cru ou encore de viandes pas suffisamment cuites. De plus, les bactéries présentes dans le lait se retrouvent piégées dans les caillots lors de la fabrication de fromage et sont donc concentrées dans celui-ci. Ce mode de contamination est très courant dans les pays situés en zone d'endémie. (18)

## B) Incubation de la maladie :

La brucellose est une maladie qui a une période d'incubation d'une à trois semaines nécessaires à la multiplication de la bactérie dans les nœuds lymphatiques de la porte d'entrée. Les brucelles se cachent ensuite dans les macrophages ce qui leur permet d'échapper au système immunitaire de l'hôte. Ainsi, la mise en place de l'immunité est faible et tardive. L'infection ne provoque pas d'état de choc chez les patients infectés, puisqu'elle produit une faible réaction inflammatoire. (17)

## C) Clinique :

L'infection humaine est initialement asymptomatique dans 90% des cas mais ce silence clinique initial ne préjuge pas de l'expression ultérieure de la maladie. La voie de contamination principale de la brucellose se trouve être la voie digestive. Suite à une période d'incubation variable, la brucellose se caractérise, en l'absence de traitement précoce, par deux grandes phases : la phase aiguë septicémique et la phase sub-aiguë. Il existe aussi une phase chronique qui peut faire suite à ces deux phases . Lorsque les patients infectés par les *Brucella*, demeurent asymptomatiques, ou peu symptomatiques, le diagnostic ne peut être établi que de façon fortuite, par exemple au cours d'une enquête sérologique systématique après une exposition avérée. (12)

### 1) Phase aiguë septicémique :

La phase aiguë se caractérise par une septicémie d'origine lymphatique, au cours de laquelle les bactéries colonisent les cellules du système réticulo-endothélial. Cette phase se manifeste par une fièvre ondulante en relation avec les décharges bactériémiques. Les manifestations cliniques sont classiquement protéiformes et peu spécifiques. La plupart du temps il s'agit d'un tableau pseudo-grippal laissant apparaître : fièvre, sueurs nocturnes malodorantes, anorexie, asthénie, céphalées, myalgies, arthralgies. A ce stade l'examen clinique est souvent normal, mais peut permettre de déceler des adénopathies, une splénomégalie, une hépatomégalie. Cette forme reste rarement observée de nos jours.



L'évolution spontanée de la brucellose se caractérise par la possibilité de survenue de localisations secondaires ou brucellose focalisée qui peuvent être le mode de révélation de la maladie, et font souvent la gravité de cette infection. (12)

## 2) Phase secondaire post-septicémique sub-aiguë ou focalisée :

La maladie évolue ensuite vers la phase sub-aiguë, avec possibilité de localisations secondaires, les plus fréquentes sont ostéoarticulaires. Cette phase peut succéder à la phase aiguë bruyante ou être révélatrice de l'infection. Elle dure quelques mois. Une polyarthrite asymétrique touchant les genoux, les hanches, les coudes, les articulations sacro-iliaques ou sterno-claviculaires reste très évocatrice. L'atteinte des vertèbres lombaires (spondylites ou spondylodiscites) est également fréquente.

D'autres manifestations telles que des monoarthrites, des bursites, des ténosynovites, des ostéomyélites sont possibles. On note que les localisations cardiaques peuvent correspondre à une péricardite, une myocardite ou plus encore une endocardite. Ces endocardites brucelliennes représentent la première cause de décès due à cette affection en zones d'endémie. Elles surviennent chez 1 à 2% des patients infectés, fréquemment sur valvulopathie aortique préalable, et sont dues généralement à l'espèce *B. melitensis*. Les localisations neurologiques s'observent chez 1,7 à 10% des patients, s'agissant de méningites, de méningo-encéphalites, d'abcès cérébraux ou cérébelleux, de myélites, ou d'atteintes des nerfs crâniens ou périphériques. Chez l'homme, une atteinte de l'appareil génito-urinaire est possible et se manifeste par une orchite-épididymite unilatérale ou bilatérale, une pyélonéphrite ou une prostatite. Chez la femme on observe une pyélonéphrite voire généralement un abcès tubo-ovarien, une salpingite, une endométrite.

D'autres manifestations plus rarement décrites existent : abcès hépatiques ou spléniques, des cholécystites, des pancréatites, des hépatites granulomateuses. Des manifestations cutanées telles que des papules, rash, érythème noueux sont observés chez environ 5% des patients.(12)

### 3) Formes chroniques :

Ces formes se définissent par une évolution prolongée supérieure à 1 an, avec ou sans la découverte d'un foyer infectieux focalisé. Dans ce cas présent, un traitement antibiotique même tardif peut s'avérer efficace. La forme chronique définit également une évolution prolongée de la phase de convalescence, caractérisant des troubles fonctionnels non spécifiques « la patraquerie brucellienne » (notamment asthénie physique et psychique, algies diffuses, état dépressif), une élévation persistante des IgG sériques anti-*Brucella*, une intradermoréaction à la brucelline positive témoin d'une hypersensibilité retardée. (12)

### 4) Chez la femme enceinte :

Il est important de noter que la brucellose contractée chez la femme enceinte peut avoir de graves conséquences et notamment provoquer de possibles avortements, accouchements prématurés et de de morts in utero dans 10 à 46% des cas. (5)

5) Tableau récapitulatif des différentes formes cliniques de la brucellose :

	<b>Brucellose aiguë avec septicémie</b>	<b>Brucellose subaiguë avec focalisation</b>	<b>Brucellose chronique</b>
<b>Tableau clinique des différentes formes de brucellose</b>	Fièvre ondulante sudoro-algique Sueurs nocturnes abondantes malodorantes	Monoarthrite aiguë fébrile, polyarthrite, bronchite, pneumopathie, Réaction neuro-méningée, Formes hépato-spléniques subaiguës, formes génitales subaiguës	Arthrite séreuse ou suppurée, ostéoarthrite, ostéite, spondylodiscite, sacrocoxite, orchite, épididymite, prostatite, salpingite, Bronchite, pneumopathie, pleurésie sérofibrineuse ou purulente, Hépatite, anémie, purpura, hémorragie, néphrite, endocardite, phlébite, méningite, myélite, névrite radiculaire, manifestation cutanées d'allergie, manifestation psychopathologiques, asthénie profonde associée ou non à un syndrome dépressif
<b>Fréquence</b>	Rare	Forme la plus fréquente	Rare
<b>Evolution</b>	Possibilité d'évolution en brucellose focalisée	Possibilité d'évolution en forme chronique	
<b>Durée</b>	Quelques jours à plusieurs semaines		Plus d'un an

Tableau 2: Tableau récapitulatif des différentes formes cliniques de la brucellose

## D) Diagnostic de la brucellose humaine :

Il existe deux types de diagnostic de la maladie, direct ou indirect comme décrit chez l'animal. Ce diagnostic est primordial car le diagnostic clinique de la brucellose est difficile. (18)

De plus, la notion de profession exposée, argument solide de présomption, ne s'applique pas à tous les cas lors, notamment, d'une contamination accidentelle en laboratoire ou lors d'une contamination indirecte par l'alimentation.

### 1) Prélèvements :

Le sang est le prélèvement de choix, permettant de réaliser une hémoculture, pour l'isolement des bactéries au cours de la bactériémie. Mais celle-ci étant intermittente, il est nécessaire de pratiquer des hémocultures à répétition. Des prélèvements spécifiques seront réalisés en cas de localisations secondaires : ponctions de tissus, liquide cérébro-spinal, ganglion ou liquide articulaire...

Rappelons que l'isolement des brucelles nécessite des conditions de culture et de sécurité particulières. Idéalement, celui-ci doit être réalisé en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3.

### 2) Diagnostic direct :

#### a) Mise en culture et identification bactérienne :

Comme cité précédemment chez l'animal les *Brucella* sont des bactéries exigeantes, de croissance lente, nécessitant un milieu spécifique pour garantir leur croissance.

L'isolement des bactéries à partir des cultures reste la meilleure technique pour établir un diagnostic de certitude. Ce sont des bactéries sous forme de petits bacilles (Illustration 8) à Gram négatif, aérobies strictes, à catalase positive, oxydase positive. Ces bactéries isolées chez l'Homme produisent une uréase d'action rapide et intense. L'identification phénotypique est rendue toutefois difficile suite à la faible

réactivité des bactéries aux tests biochimiques.

Et parfois, l'utilisation de galeries d'identification de type API-NE (destinées à l'identification de bacilles à Gram négatif non entérobactéries) conduit à des erreurs d'identification et à une confusion avec une autre espèce bactérienne : *Moraxella phenylpyruvica*. (12)



Illustration 8: Photo d'une culture de colonies de *Brucella melitensis* du CDC (2002)  
(19)

Toutes les souches identifiées doivent être ensuite envoyées au CNR des *Brucella* pour confirmation du diagnostic. En cas de brucellose aiguë, la sensibilité du diagnostic par hémoculture est d'environ 80% ; de 50% pour une forme subaiguë et de 10% pour une forme chronique. La détermination de l'espèce et du biovar est obtenue par l'étude de la sensibilité de la souche à des sérums agglutinants spécifiques ou encore par des colorants. (18)

*b) L'amplification génique par PCR :*

Tel que décrit chez l'animal, la spécificité de la PCR est comprise entre 60 et plus de 80%. Elle est donc très utilisée lors de l'emploi d'antibiotiques qui empêchent l'isolement de la bactérie. L'avantage de la PCR c'est que le diagnostic est plus

rapide que la mise en culture, mais également que le risque de contamination pour les manipulateurs est plus faible. L'inconvénient est que cette méthode est plus coûteuse. (18)

### 3) Diagnostic indirect :

Le diagnostic indirect a pour but de détecter les anticorps anti-*Brucella*, produits par l'organisme suite à un contact avec les brucelles. Les anticorps peuvent être détectés 2 à 3 semaines après le début de l'infection, dans un premier temps les IgM qui finissent par disparaître puis les IgG qui atteignent leur taux maximum deux à trois mois après l'évolution avant de décroître. Dans la brucellose chronique, les IgG sont continuellement présents. (18)

Ces anticorps peuvent être détectés à partir d'un certain seuil de détection. Ainsi il n'est pas nécessaire de prélever le sérum trop précocement. Une comparaison du taux d'anticorps peut s'effectuer toutes les deux à trois semaines afin d'évaluer une variation de ce taux. (18)

#### a) Serodiagnostic de Wright (SAW) :

Cette méthode de diagnostic indirect reste la méthode de référence. Différentes dilutions de sérum contenant les antigènes sont versés dans des tubes à essais. Après une incubation de plusieurs heures à 37°C, il y a une formation d'un complexe anticorps de type IgM et d'antigènes, c'est pourquoi la couleur du sérum contenu dans le tube à essai est différente. Ce test devient positif entre 7 et 15 jours après l'apparition des signes cliniques. En revanche le test devient négatif en cas de guérison. Pour être considéré positif le test doit être supérieur à 30UI/mL, et un test supérieur à 160UI/mL évoque un foyer bactérien profond et est considéré comme un seuil de positivité en zone non endémique. (18,20)

Cette méthode standardisée reste la technique de référence préconisée par l'OMS.

Il existe malgré tout un risque de réactions croisées provoquant des réactions faussement positives, lors d'une précédente atteinte par la tularémie, la yersiniose, avec *Vibrio cholerae* (souche vaccinale), *E. coli* O157, *Coxiella burnetii*, et des espèces de l'ordre des Rhizobiales. (18)

Enfin, la méthode immuno-enzymatique (ELISA) et l'épreuve de l'antigène tamponné (EAT) sont également utilisées pour le diagnostic de la brucellose chez l'animal. Les méthodes sont exactement les mêmes que celles décrites chez l'Homme.

*b) Réaction de fixation du complément (RFC) :*

Comme précédemment décrit chez l'animal, cette méthode est utilisée pour la confirmation, car étant plus spécifique, des sérums positifs ou douteux aux épreuves précédentes. Ce test permet une mise en évidence des anticorps fixant le complément, de façon quantitative. Les IgG et les IgM sont donc détectés. Le temps de fixation et le temps d'hémolyse s'effectuent au bain marie à 56°C, durant 30 min. (21,22)

*c) Tableau récapitulatif de l'intérêt des différentes méthodes de diagnostic de la brucellose :*

Méthode	Brucellose			commentaire
	aiguë	focalisée	chronique	
<b>Culture</b>				
Hémoculture	+++	+	-	Spécificité ~100 % identification de l'espèce et du biovar en cause
Myéloculture	+++	++	-	Intérêt not. Si antibiothérapie préalable
Culture du foyer infectieux	-	++	-	Sensibilité souvent faible
<b>Sérologie</b>				
EAT	+++	+	-	détecte IgG, précoce réactions croisées +++
SAW	+++	+	-	référence OMS détecte IgM + IgG réactions croisées +++
IF / ELISA	++	+++	++	détecte IgM et IgG plus tardif / SAW réactions croisées +++
<b>Amplification génique</b>				
PCR <i>bcs</i> 31	++ (sang, sérum)	++ (pus, tissu)	-	sensible, spécifique [53] identification du genre
PCR IS711	++ (sang, sérum)	++ (pus, tissu)	-	gène multicopies détermination du biovar (AMOS PCR) [63]

*Illustration 9: Intérêt des différentes méthodes de diagnostic de la brucellose (5)*

Les méthodes de cultures utilisées dans la détection de brucellose aiguë et focalisée, qu'elles soient hémoculture, ou myéloculture, forment un diagnostic de certitude. La détermination de l'espèce et du biovar sera réalisée par le CNR des *Brucella*. L'intérêt sera d'ordre épidémiologique (réservoir probable, mode de transmission) et pronostique ; *B. melitensis* étant responsable des formes les plus graves de brucellose. L'inconvénient étant la durée de l'obtention du résultat, d'autres méthodes ont pris le relais : la sérologie et les techniques d'amplification génique

ayant une détection plus spécifique et plus sensible. Dans le cadre d'une infection chronique par la brucellose, la méthode préférée sera la sérologie par la technique ELISA, car plus apte à détecter les IgM et IgG. (5)

### E) Traitement de la brucellose humaine :

Suite à de nombreuses recherches, il est actuellement défini qu'une utilisation d'une antibiothérapie en monothérapie et/ou de courte durée est liée à un taux élevé d'échecs thérapeutiques, voire de rechutes suite à l'arrêt du traitement. (5)

Les molécules utilisées doivent être actives *in vitro* et posséder une bonne diffusion tissulaire et cellulaire du fait et du caractère intracellulaire des brucelles.

Les tétracyclines et notamment la doxycycline à 200mg/j constitue la base du traitement. Celle-ci est associée selon la forme et le tableau clinique à d'autres antibiotiques tels que la rifampicine ou à un aminoside (streptomycine ou gentamicine). Ces associations permettent de réduire le plus possible le taux de rechute à moins de 10%. (5)

Cependant, la rifampicine se voit limitée par l'existence de souches naturellement résistantes dans 15 à 20% des cas. Elle peut cependant être une alternative si l'association doxycycline + aminoside est contre indiquée.



<p><b><u>Brucellose aiguë</u></b> (plusieurs options)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Doxycycline <i>per os</i> (200mg/j) + rifampicine <i>per os</i> (15 mg/kg/j) durant 6 semaines</li> <li>- Doxycycline <i>per os</i>, 6 semaines + streptomycine voie parentérale (1g/j), 15 ou 21j</li> <li>- Doxycycline durant 6 semaines + gentamicine (5mg/kg/DUJ) pendant 7 à 10j</li> </ul>
<p><b><u>Brucellose focalisée</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Doxycycline + aminoside puis doxycycline + rifampicine pendant plusieurs mois</li> </ul>
<p><b><u>Cas particuliers</u></b></p> <p><b>Femme enceinte et chez l'enfant de moins de 8 ans</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rifampicine + cotrimoxazole ; arrêt du cotrimoxazole 15 jours avant le terme</li> </ul> <p><b>Endocardite brucellienne</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tétracycline + rifampicine + fluoroquinolone pendant plusieurs mois</li> </ul>
<p><b><u>Brucellose chronique</u></b></p> <p>Antibiothérapie inutile sauf si foyers infectieux ; traitement symptomatique</p>

*Tableau 3: Options thérapeutiques de traitement de la brucellose selon les formes cliniques*

(23)

L'OMS préconisait comme premier protocole thérapeutique de la brucellose aiguë non focalisée en 1965, l'association de la tétracycline à 500mg 4 fois/jours per os, pendant quatre à six semaines, et à la streptomycine à 1g/jour en injection intramusculaire, pendant les deux premières semaines. Avec cette association le taux de rechutes est inférieur à 10%. (5)

Malencontreusement l'association doxycycline à 200mg/jour avec la rifampicine de 600 à 900mg/jour est considérée comme ayant une efficacité inférieure à l'association de la

doxycycline à 200mg/jour et la streptomycine à 1g/jour.

Plus récemment, l'association d'une fluoroquinolone à la rifampicine s'est révélée être tout aussi efficace que celle de la doxycycline à la rifampicine. (5)

Une étude récente a mis en évidence que l'utilisation d'une trithérapie associant la doxycycline, la rifampicine et la levofloxacin plutôt que la bithérapie associant la doxycycline et la rifampicine, permettrait de diminuer le taux de rechute dans le cas des brucelloses aiguë et subaiguë. (24)

Chez la femme enceinte il est possible d'utiliser le cotrimoxazole seul ou en

association avec la rifampicine à cause de la contre-indication à la fois des tétracyclines, des aminosides et des fluoroquinolones.(5)

Chez l'enfant de moins de 8 ans, des alternatives sont possibles afin d'éviter tout risque de coloration permanentes des dents par les tétracyclines, tels que le cotrimoxazole à 80mg de triméthoprimine/kg par jour 2 fois/jour pendant 45 jours associé à la rifampicine à 15mg/kg/jour. (5)

## VI. Etudes de cas atypiques de brucellose humaine :

### A) Cas d'un patient contaminé dans un pays en zone d'endémie :

Un patient âgé de 72 ans, ayant voyagé en Algérie fut adressé au service de médecine polyvalente et maladies infectieuses au centre hospitalier de Douai, pour un purpura évoluant depuis 15 jours. A son arrivée le patient présentait plusieurs signes cliniques tels qu'une affection fébrile, des lésions cutanées de type purpura vasculaire au niveau des membres inférieurs, à l'abdomen et enfin aux membres supérieurs.

Le patient présentait biologiquement, un syndrome inflammatoire, une anémie inflammatoire et une discrète cytolyse hépatique. Après réalisation d'un examen cyto bactériologique des urines (ECBU), qui s'est avéré être stérile, une radiographie thoracique n'a révélé aucun foyer, tout comme l'échographie abdominale qui n'a révélé aucune particularité. En revanche, 3 flacons d'hémocultures sont revenus positifs à *Brucella melitensis* ce qui a permis de poser le diagnostic de la brucellose.

Le patient fut immédiatement traité par rifampicine à 900mg par voie intraveineuse (IV), et doxycycline à 100mg 2x/j per os. 2 injections de gentamicine à 300mg furent injectées au patient devant l'hyperthermie persistante qu'il présentait.

Face à l'interrogatoire, le patient a reconnu durant son voyage consommer régulièrement du lait cru de Brebis en durant son voyage en Algérie.

Suite à la réalisation d'une scintigraphie osseuse, et d'un TEP-scann aucune atteinte de la brucellose au niveau ostéo-articulaire n'a été démontrée, ni aucune endocardite après la réalisation d'une échographie transoesophagienne. Ensuite le patient a subi une biopsie cutanée, montrant des remaniements inflammatoires polymorphes dermo-épidermiques à tropisme périvasculaire sans aspect caractéristique d'une vascularite.

Durant le 7<sup>e</sup> jour, le patient est devenu apyrétique, en revanche la biologie clinique a montré une majoration du syndrome inflammatoire, ainsi que l'apparition d'une orchi-

épididymite droite. Au 9e jour après le début du traitement, le patient a commencé à présenter des signes d'aphasie de 20 minutes, qui récidivaient, sans autres anomalies neurologiques, tout en étant apyrétique. La réalisation d'une IRM cérébrale n'a démontré aucune anomalie, mais la ponction lombaire a permis de détecter 25 leucocytes. L'électroencéphalogramme (EEG) a révélé des crises partielles complexes et focalisées en central gauche. Ce qui a entraîné un traitement par du clobazam qui est un anti-convulsivant et de la ceftriaxone à 2g pour le traitement de la neurobrucellose probable.

Malgré les efforts de l'équipe médicale, le patient fut transféré en réanimation pour un état de mal épileptique, entraînant la mise sous lacosamide et fortes doses de clobazam du patient. Ceci a permis d'améliorer l'état du patient, sans nouvelles récurrence de crise partielle. Les analyses du liquide céphalorachidien (LCR) de mises en cultures, d'analyse par PCR ou par sérologies, n'ont révélées aucune présence de *Brucella*.

Le traitement par ceftriaxone, doxycycline, rifampicine fut poursuivi pendant 1 mois, pour qu'ensuite le traitement par co-trimoxazole à 800mg/160mg x2 per os, doxycycline, rifampicine prenne le relais durant 5 mois supplémentaires. Sur une durée de 6 mois de traitement, le patient est devenu totalement asymptomatique. Après la réalisation d'examen de contrôle, tel que l'EEG de contrôle qui s'est avéré être normal, le clobazam et le lacosamide ont été arrêtés 1 an après avec une évolution toujours favorable du patient.

Dans ce cas présent, le patient présentait une forme aiguë de brucellose, avec des manifestations inhabituelles telle que le purpura, même s'il est décrit dans la littérature. Ces atteintes cutanées provoquées par *Brucella*, seraient présentes dans 5 à 14% des cas selon les études, et dans les 3 stades de la maladie.

Le premier stade se manifeste par des lésions liées au contact direct de l'agent pathogène, souvent rencontrés chez les éleveurs, les agriculteurs, vétérinaires... Laissant apparaître des abcès au point d'inoculation ou des lésions de dermatite. Par la suite, les manifestations cutanées prennent la forme d'éruption papulaire, urticarienne, d'érythème noueux ou ressemblant, érythème malaire, lésions érysipéloïdes, psoriasiformes ou impétiginisées, eczéma, oedème, lésions

ressemblant au pityriasis rosé.

Des lésions généralisées, avec abcès cutanés multiples, ulcérations multiples peuvent également être observées, voire systémiques ou vasculaires avec purpura et emboles pouvant être rencontrées. Les lésions les plus fréquentes restent les éruptions maculopapulaires, les lésions urticariennes, ou encore les lésions ressemblant à l'érythème noueux. Deux cas de purpuras extensifs au cours des bactériémies sévères associées à des troubles de l'hémostase ont été rapportés.

Dans le cas de ce patient, l'atteinte génito-urinaire de la brucellose, qui reste une atteinte classique, c'est la plus fréquente des focalisations après l'atteinte ostéoarticulaire qui représente 2 à 20% des brucelloses. Il n'y a pas d'anomalie du sédiment urinaire dans le cadre de l'orchi-épididymite unilatérale, l'évolution étant favorable sous antibiothérapie. Malgré cela, il existe des complications telles que l'abcédation, la fistulation, voire la nécrose conduisant malheureusement à l'orchidectomie. Cette dernière étape n'arrive que très rarement, et sur les formes vues trop tardivement.

L'existence de la neurobrucellose n'est pas à rejeter lors d'une brucellose, car elle peut se manifester à n'importe quel stade de la maladie. Cela concerne uniquement 1 à 7% des brucelloses. Il existe pour cela plusieurs formes de neurobrucelloses comme les polyradiculonévrites, des atteintes des nerfs crâniens, des méningites ou méningo-encéphalites, des myélites, des formes psychiatriques, des abcès, des vascularites, et peu de cas d'épilepsie. Le diagnostic est établi sur des critères reposant sur des éléments cliniques ainsi qu'analyse du LCR (Liquide céphalo-rachien).

Dans le cas de ce patient, le diagnostic de la neurobrucellose a été évoqué à la suite de la présence d'une méningite à la ainsi qu'à la présence de signes neurologiques non expliqués par les imageries, et les tests du LCR. La durée du traitement de la neurobrucellose étant mal définie, il est considéré que les patients doivent être traités entre 4 et 6 mois par une association d'antibiothérapie. (25)

### B) Cas d'une ostéonécrose de têtes fémorales causées par *Brucella* :

Ce deuxième cas clinique humain, illustre un homme âgé de 49 ans, vivant en

Mongolie, étant victime de nombreuses fièvres récurrentes, accompagnées de douleurs, qui fût diagnostiqué positif à *Brucella* à la suite d'un test. Ce patient admis au centre hospitalier local, souffrait d'une ostéonécrose bilatérale des têtes fémorales induisant de nombreuses douleurs, des difficultés de mouvements ainsi que des difficultés de marche. Ce patient a subi une double pose de prothèses, afin de remplacer les têtes fémorales et le col du fémur.

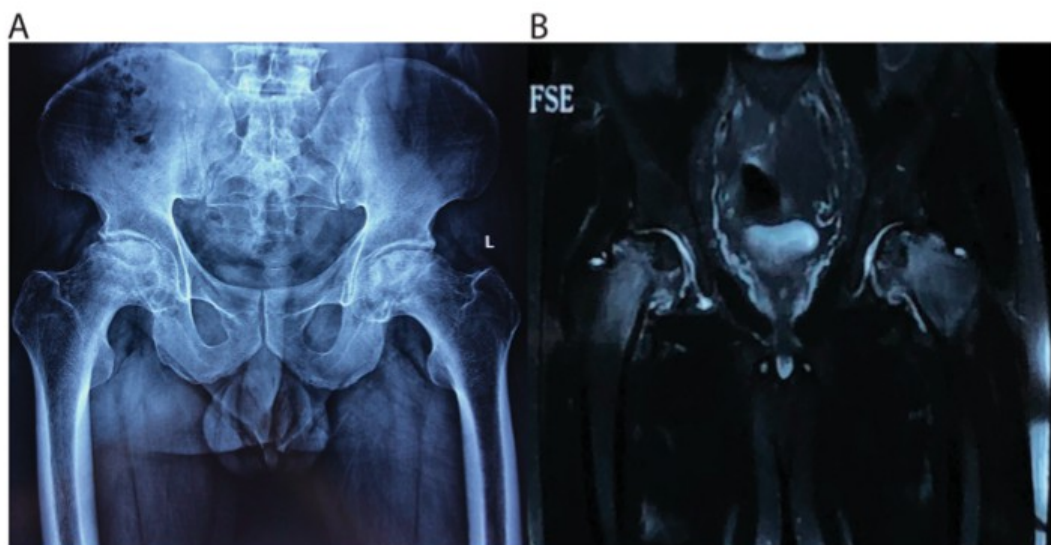
Après un examen radiologique approfondi des hanches, le côté gauche laissait apparaître une tête fémorale normale, contrairement à la droite qui était atteinte d'ostéonécrose (anomalie de transparence, perte de sphéricité). Le patient ne reçut pas le traitement standard de la brucellose, car il souffrait également de spondylarthrite. Il avait contracté dans le passé l'hépatite B chronique. Les symptômes se sont aggravés après quelques mois, il fut donc traité par doxycycline et rifampicine pendant 6 semaines.



*Illustration 10: Radiographie du bassin du patient montrant que la tête fémorale droite est atteinte d'ostéonécrose (Stade III), contrairement à la gauche qui semble normale (Stade II)*

Après avoir réalisé un test au Rose-Bengale qui s'est avéré faiblement positif, le sérodiagnostic de Wright a montré une titration significative. Le patient, admis

dans le centre pour le traitement contre la brucellose, a vu son état clinique se dégrader. A l'observation de la radiographie puis à l'IRM (Image par Résonance Magnétique), l'ostéonécrose de la tête fémorale droite s'est avancée au stade IIIC. De ce fait, le patient montrait une limite à effectuer des mouvements passifs et actifs des hanches. Les mouvements d'abductions et d'adductions étaient significativement limités par le patient. La conséquence de la diminution d'amplitude des mouvements, a impacté le confort de vie, et les déplacements du patient, qui étaient donc limités dans le temps et l'espace.



*Illustration 11: Radiographie (A) et IRM (B) des hanches du patient, montrant une ostéonécrose de la tête fémorale droite au stade IIIC 1 an après le premier diagnostic.*

Des examens supplémentaires ont été réalisés chez la patient, tels que :

- Le test d'agglutination de *Brucella* (faiblement positif)
- Vitesse de sédimentation des érythrocytes
- Mesure de la protéine C-réactive (CRP)
- Aspartate Amino-transférase (AST)
- Mesure du Harris Hip Score (Score mesurant la mobilité, la douleur, la fonction de la Hanche pouvant aller jusque 100) : 54 à droite et 45 à gauche (un score inférieur à 70 est considéré comme mauvais)

Ces résultats se trouvaient dans les plages normales. A la suite de ces examens, les

chirurgiens ont procédé à la mise en œuvre d'une arthroplastie bilatérale totale de hanche. Durant l'intervention, les chirurgiens ont irrigué la plaie avec des iodophores permettant de limiter l'infection intramedullaire. L'intervention s'est révélée être un succès, mais le patient a été de nouveau traité par doxycycline et rifampicine, pour la période de convalescence post-opératoire, afin de prévenir une éventuelle réinfection par *Brucella*. Le patient deux jours après l'intervention, a pu marcher grâce à l'aide à la mobilité type déambulateur. Les mouvements des deux hanches ont été nettement améliorés grâce à l'intervention, ainsi le patient est passé du score de Harris Hip de 54 à 80 à droite, et de 45 à 85 à gauche (un score de Harris Hip compris entre 80 et 90 est considéré comme bon). De plus, aucune récurrence de l'infection de la brucellose n'est apparue chez le patient. Par conséquent, l'intervention fût un franc succès pour l'équipe de chirurgie.

Le mécanisme de base de la nécrose de la tête fémorale est un arrêt de la circulation sanguine au niveau de la zone concernée, ce qui va aggraver la nécrose, même si l'origine reste inconnue. Aujourd'hui, on sait que les traumatismes, les corticostéroïdes, et l'alcoolisme sont des facteurs de risque de la nécrose. De plus, les mécanismes pathogènes existants lors de la mort cellulaire comprennent l'ischémie, la toxicité cellulaire directe, et la différenciation altérée des cellules souches mésenchymateuses.

La brucellose est une maladie connue mondialement pour ses épidémies courantes. Dans les pays développés elle n'a pas toujours été contrôlée efficacement, cela sans compter l'incidence qui a augmenté en Chine ses dernières années. L'arthrite est la complication la plus courante de la brucellose dans cette zone géographique. Elle peut survenir jusqu'à 70% chez les patients atteints de brucellose, avec des sites préférentiellement en périphérie comme l'arthrite des genoux, des hanches, ou encore des chevilles. Il existe pourtant beaucoup d'articles sur la brucellose induisant de l'arthrite, mais il n'existe toujours pas de rapport sur l'ostéonécrose induite par la brucellose, comme le montre ce cas clinique. Le patient a présenté les symptômes typiques de la brucellose, pourtant non spécifique, mais les tests expérimentaux ont confirmé l'infection. Le patient présentait également une douleur bilatérale des hanches, qui s'est avérée être une ostéonécrose de la tête fémorale. En raison, du retard de la première visite à l'hôpital, l'équipe n'a pas pu affirmer de façon certaine



que l'ostéonécrose a été causée par l'infection de *Brucella* spp. Etant donné que le patient n'avait aucun antécédent lié à la prise de corticostéroïdes, ni d'alcoolisme, ou encore de traumatisme, il a été présumé que l'ostéonécrose était très probablement liée à l'infection par la brucellose chez ce patient. Pourtant on ne sait pas non plus si l'ostéonécrose est apparue directement après l'infection brucellique, ou convertie après l'arthrite septique. Les rapports précédents se sont concentrés sur l'arthrite brucellique, pouvant entraîner un dysfonctionnement des articulations touchées par l'infection. Après avoir traité le patient pendant 6 semaines par doxycycline et rifampicine, le patient a récupéré de la mobilité pour l'ampleur de ses mouvements, et l'arthrite a guéri partiellement.

Le cas rapporté ici, permet de montrer qu'il existe de l'ostéonécrose des têtes fémorales en tant que complication à l'infection brucellique, qui ne peut probablement pas revenir à la normale, et éventuellement conduire à une arthroplastie totale de la hanche. Par conséquent, le diagnostic de la brucellose reste important, il est donc recommandé aux patients présentant une forte douleur aux hanches, dans les régions d'endémies de la brucellose, de consulter leur médecin, afin que ces symptômes soient pris en considération pour l'arthrite septique et l'ostéonécrose des têtes fémorales. Quant au diagnostic de la brucellose arthritique, il doit être diagnostiqué par l'hémoculture, et par analyse PCR, avec pour prélèvements du sang périphérique, ou encore du liquide synovial. Une culture de la moelle osseuse peut également être réalisée chez les patients dont la sérologie est négative. En ce qui concerne l'ostéonécrose des têtes fémorales, une IRM doit être réalisée au stade précoce de l'infection. De plus, si l'ostéonécrose est présentée, les traitements conservateurs, ou les arthroplasties doivent être les premiers choix de traitements des patients qui en souffrent. (26)

## VII. Moyens prophylactiques utilisés contre la brucellose animale :

### 1) Exigences sanitaires françaises chez l'animal :

#### a) Exemple de l'obtention du statut « Indemne de brucellose » dans un cheptel bovin :

La brucellose est une maladie animale chez les petits ruminants, qui est réglementée en tant que danger sanitaire de 1ère catégorie. Il s'agit d'une prophylaxie à échelle nationale, mis en œuvre par l'arrêté ministériel du 13 octobre 1998 ainsi que les directeurs des services vétérinaires de chaque département. Cet arrêté encadre les modalités de contrôle des troupeaux, précise les conditions de vaccination des individus, explicite la police sanitaire en vigueur lors d'un foyer de brucellose, à *B. melitensis*, et précise notamment les conditions nécessaires à la qualification « indemne de brucellose ».

Pour l'obtention de cette qualification, il est nécessaire au sein d'un cheptel bovin d'avoir les qualifications suivantes :

- Aucun symptôme de brucellose observé depuis au moins 6 mois
- Aucun bovin n'a été vacciné contre la brucellose depuis au moins 3 ans
- Tous les bovins âgé de 12 mois et plus ont été soumis individuellement à deux contrôles sérologiques favorables, par EAT, espacés de 3 à 12 mois
- Tout bovin introduit dans le cheptel, quelque soit l'âge de l'individu :
  - Provient d'un cheptel officiellement indemne
  - Est isolé dès son arrivée dans l'exploitation, et,
  - Est soumis, s'il est âgé de plus de 12 mois, dans les quinze jours précédent ou suivant son arrivée dans l'exploitation à une EAT ou à un ELISA sur mélange de sérum (obligatoirement complété par une EAT dans le cas où un ELISA sur sérum mélangé ressort positif)

Afin de conserver cette qualification il est nécessaire :

- D'avoir un contrôle sérologique favorable des bovins âgés de 12 mois ou de 24 mois lorsque dans un département, les cheptels bovins ont un pourcentage annuel d'infection inférieur à 0,2% depuis 4 ans minimum,
  - Soit par EAT
  - Soit par ELISA sur mélange de sérum, avec obligation de compléter par un test EAT si le test précédent révèle une positivité.
  - Soit par RT, ou ELISA mensuel sur un lait de mélange
- Les animaux ne sont pas entretenus au contact d'autres espèces avec un statut sanitaire inconnu, sensible, ou infecté.

La qualification « Indemne de brucellose » permet :

- De commercialiser le lait cru
- D'autoriser la vente d'animaux d'élevage, ou introduits temporairement dans un autre cheptel (prêt d'animaux, mise en pension, prés commun...), ce qui permet d'obtenir l'attestation de provenance ou encore « ASDA » (Attestation Sanitaire à la Délivrance Anticipée)
- Le transport de bovins à l'extérieur de l'exploitation (si le cheptel du bovin n'est pas qualifié « indemne de brucellose », la mise en circulation de l'animal sur le territoire national n'est pas autorisé, d'où la nécessité du justificatif de l'ASDA.
- D'autoriser la production d'embryons (prélevés sur des femelles indemnes, également pour la réception de ces embryons).

A l'inverse une autorisation peut également être retirée à un cheptel, provisoirement ou non. Le cheptel perd sa qualification « indemne de brucellose » et doit être déclaré « infecté ». Pour cela, le cheptel est soumis aux mesures d'assainissement par la police sanitaire, puisque la brucellose est réputée contagieuse. Ces différentes mesures prennent en compte les avortements, les orchites, qui constituent des suspicions à l'infection brucellique. (27)

Tout avortement oblige l'éleveur à contacter son vétérinaire sanitaire, qui est désigné par le propriétaire des bovins, ce qui lui octroie le droit d'effectuer des actions

sanitaires de santé publique ou encore de prophylaxie. Ceci afin de l'informer de la situation, et d'écartier le risque d'une infection à *Brucella*. Cette zoonose étant considérée comme une maladie grave, aucun traitement n'est utilisé. C'est pourquoi l'abatage des individus identifiés comme positifs à la maladie brucellique est nécessaire afin de stopper la contamination du troupeau en cause et limiter la dissémination de la maladie. (15,17)

b) Mesures de police sanitaire chez les bovins :

Ces mesures sont importantes, car la brucellose est une maladie très contagieuse. Dans le cadre des avortements, il est envisagé une brucellose contagieuse, ce qui entraîne une déclaration à la commission Européenne et au près de l'OIE (Office International des Épizooties). Le vétérinaire sanitaire du cheptel est requis afin d'examiner le/les individu(s) concerné(s), ce qui entraîne de la part du vétérinaire sanitaire :

- L'isolement de/des individu(s) en question
- Des prélèvements nécessaires (échantillon sanguin, écouvillonnage endo-cervical...)
- De rédiger un rapport précis concernant l'avortement
- D'expédier le rapport et les prélèvements au près d'un laboratoire d'analyse médical
- D'exiger des mesures prophylactiques de désinfection
- De conseiller l'éleveur afin de limiter le risque de contamination des autres animaux du cheptel, et à l'Homme.

Après l'obtention des résultats du laboratoire d'analyse, un résultat positif entraîne le placement du cheptel sous APDI (Arrêté Préfectoral de Déclaration d'infection). Cet arrêté met en place l'isolement, la séquestration puis le marquage des individus par le vétérinaire sanitaire. Le marquage est effectué par perforation en forme de « OO » sur l'oreille gauche de l'individu infecté par *Brucella*. La DDSV (Direction Des Services Vétérinaires) délivre un « laissez-passer – Titre d'élimination »

permettant aux individus marqués d'être acheminés à l'abattoir désigné par le préfet sous un délai maximum de 30 jours.

Pour les autres bovins, le vétérinaire sanitaire doit recenser tous les individus avec des prélèvements sanguins à partir de 12 mois, pour les adresser ensuite au laboratoire d'analyses médicales. Les bovins doivent être marqués à l'oreille gauche par un « O », et livrés à l'abattoir sous 30 jours. Cependant, la totalité du bétail peut ne pas être abattu, pour cela seuls les bovins positifs, les nouveaux-nés de moins de 12 mois de mère brucellique seront marqués et dirigés vers l'abattoir.

Alors dans le cheptel, 6 à 8 semaines après l'élimination des individus contaminés par la brucellose, de nouveaux prélèvements sanguins seront effectués dans le cadre d'un contrôle sérologique. Dans le cas où des individus se retrouvent infectés par la brucellose, la procédure se répète à nouveau, comprenant isolation, marquage, désinfection, et abattage.

A la suite de ces interventions, la DDSV devra ouvrir une enquête épidémiologique. De plus l'introduction d'individus dans le cheptel est interdite, jusqu'à ce que les contrôles sérologiques deviennent favorables, ainsi que toute sortie d'individus pour une autre raison que l'abattage. Les pâtures, les près où les animaux infectés ont séjourné sont interdits de séjour durant 60 à 90 jours. De plus, le lait, ne peut être vendu, ni utilisé, impactant économiquement l'éleveur.

Concernant la levée de l'APDI, certaines conditions doivent être réunies, comme un délai de 6 semaines minimum après la confirmation du dernier cas de brucellose du cheptel, l'abattage des individus infectés, et que la désinfection totale des locaux, soient effectués. Tout ceci, émane du vétérinaire sanitaire chargé de l'élevage.

Le cheptel peut être requalifié après que les prélèvements aient mené à une réponse favorable dans le cadre de l'assainissement des bovins de 12 mois minimum. Ainsi plusieurs contrôles seront nécessaires : un premier contrôle 6 à 8 semaines après contrôle d'assainissement, suivi d'un deuxième contrôle 4 à 6 mois après le premier.

(27)

## 2) Marche à suivre après une contamination chez l'animal :

Un animal contaminé par la brucellose ne pourra pas être traité, il sera dirigé vers un abattoir. Car rappelons-le, la brucellose est une maladie qui peut persister durant toute la vie de l'animal, ce qui lui laisserait le temps de disséminer et contaminer son environnement ainsi que ses congénères. C'est pourquoi un dépistage d'animaux infectés est nécessaire, comprenant les malades, et les animaux infectés inapparents. Par la suite, ces animaux sont isolés, et abattus. Lorsque le troupeau est trop infecté, il arrive qu'il soit entièrement éliminé, face à l'impuissance de l'éleveur qui peut se retrouver sans animal.

C'est également le cas pour les femelles nées de mères infectées, pouvant ré-infecter le cheptel. Par conséquent ces femelles doivent être écartées de l'élevage et être destinées à la boucherie par l'intermédiaire de l'abattoir.

Le maintien de l'infection peut être lié à l'intervention d'autres espèces en contact avec le cheptel (exploitations communes, chiens et petits ruminants), qui par conséquent doivent être éliminés. Cette maladie ayant également une transmission vénérienne, il est conseillé aux éleveurs pour la reproduction du cheptel d'avoir recours à l'insémination artificielle. De plus, durant la mise bas, les femelles doivent être isolées dans une pièce facile à désinfecter. Après la mise bas, l'éleveur doit se charger de détruire le placenta et les annexes, de désinfecter la pièce mais également le matériel éventuellement contaminé. Le cheptel durant l'année est en liberté sur l'exploitation mais aussi dans les pâturages, qui se retrouvent contaminés par les produits corporels du cheptel. Par conséquent, une pâture peut être considérée contaminée durant au moins 2 mois.

Ces mesures doivent absolument être appliquées durant l'assainissement. Ainsi un cheptel est considéré comme assaini après 2 contrôles sérologiques favorables, ceux-ci espacés de 2 à 3 mois. (27)

Pour l'introduction d'un nouvel individu, il faut avoir la garantie qu'il soit indemne de brucellose. C'est pourquoi un contrôle sérologique et un examen clinique doivent être réalisés à l'arrivée de l'individu. De plus, il doit être mis en quarantaine le temps de l'obtention des résultats des tests sérologiques. Le cheptel doit être mis à l'écart

d'autres cheptels éventuellement contaminés. Comme nous le verrons peu après ce chapitre, la prophylaxie médicale est interdite en France, la seule solution est donc l'abattage. (27)

#### B) Prévention anti-brucellique chez l'Homme par la pasteurisation :

Outre la contamination par l'animal de façon directe ou indirecte, l'Homme peut être contaminé par les produits issus de l'animal. Il s'agit principalement du lait, des produits laitiers qui n'ont pas été pasteurisés. La viande insuffisamment cuite peut également être source de contamination chez l'Homme. Ce mode de contamination est plus souvent retrouvé dans les zones d'endémies. En France la contamination directe reste la plus fréquente, contrairement à la voie alimentaire.

C'est pourquoi il est nécessaire d'avoir recours à la pasteurisation du lait, pour les fromages qui doivent être affinés durant un temps minimum de 60 jours.

La pasteurisation est un procédé qui détruit un grand nombre de microorganismes pathogènes, tels que *Brucella*. L'avantage de la pasteurisation est de diminuer le nombre de microorganismes, de retarder leur croissance mais également d'augmenter la durée de conservation du produit. Cette méthode a été décrite par Pasteur, d'où son nom. La pasteurisation du lait s'effectue par le chauffage au dessus d'une température durant un temps précis. Il existe pour cela plusieurs types de pasteurisation :

- La pasteurisation basse : Consiste à faire chauffer le lait à une température de 63°C durant 30 min.
- La pasteurisation haute : S'effectue par le chauffage du lait à une température de 90°C durant quelques secondes.
- La pasteurisation ultra haute : S'effectue par le chauffage du lait à une température de plus de 100°C, et atteint la stérilisation UHT (Ultra Haute Température) lorsque la température atteint les 140°C.

L'avantage de la stérilisation est qu'elle détruit entièrement les microorganismes, les

virus, contrairement à la pasteurisation qui ne détruit qu'un grand nombre de microorganismes. Par exemple, *Brucella abortus* nécessite un temps de pasteurisation de 15 secondes à une température de 71°C. (18) Cette technique permet donc de limiter la contamination alimentaire par *Brucella*, notamment dans les pays en zone d'endémie.



## VIII. Vaccination anti-brucellique :

### A) Vaccination chez l'animal :

Il existe plusieurs vaccins disponibles, anti-*Brucella* chez les animaux, cependant, il est important de noter que la vaccination des animaux contre la brucellose est interdite en France depuis 1998, car elle serait responsable des résultats séronégatifs lors des diagnostics de la brucellose animale. De plus, tout traitement est interdit, car il pourrait engendrer des résistances. Ceci peut paraître contraire aux exigences sanitaires françaises, or l'arrêté ministériel du 13 octobre 1998 autorise néanmoins que dans les zones à risques d'endémies, il soit possible d'avoir recours à des dérogations pour autoriser cette vaccination. Il s'agit principalement des zones exposées à la transhumance entraînant un mélange des troupeaux, une large prévalence de l'infection, ou encore des mouvements importants entre troupeaux (nouvelles introductions). Cette dérogation fait appel à une concertation régionale ou encore inter-régionale des autorités administratives, après un avis des organismes professionnels concernés et accord de la DGAL (Direction Générale de l'Alimentation). (28)

#### 1) Bases de la vaccination :

La vaccination des individus constitue l'une des premières étapes de lutte contre la maladie. Elle est mise en place le plus rapidement possible afin de contrôler l'infectiosité de la maladie. La vaccination est d'autant plus justifiée dans les régions fortement touchées, associée à la prophylaxie sanitaire afin de lutter contre son caractère zoonotique.

Les vaccins produits pour lutter contre la maladie brucellienne, produisent des anticorps anti-LPS-S. Ils sont fabriqués à partir de souches vivantes atténuées de *Brucella*. Les souches vaccinales recommandées par l'OIE pour la vaccination des troupeaux en Europe sont la souche B19 (appelé également S19) et RB51 de *Brucella abortus* biovar 1 pour la souche bovine, concernant la vaccination des ovins et des caprins, la souche Rev.1 de *Brucella melitensis* biovar 1. En Chine il existe une autre souche de *Brucella* qui est administrée aux ovins, bovins, caprins et

porcins. Il s'agit de la souche S2 de *Brucella suis* qui protégerait contre *Brucella melitensis*, mais démontrée avec une efficacité inférieure à Rev.1.(18)

Les vaccins vivants utilisés tels que S19 et Rev.1, n'accordent pas une efficacité absolue envers l'hôte. Les individus au cours de leur vie peuvent s'infecter par une souche sauvage, voir même développer des symptômes liés à l'infection brucellique, alors que l'animal est vacciné. L'animal peut alors excréter la bactérie, la transmettre à ses congénères, devenir la source de l'infection... Même si cela reste peu probable, il est nécessaire d'être vigilant envers le cheptel vacciné.

Afin d'éradiquer la brucellose, la vaccination des populations concernées par la maladie doivent être vaccinées à hauteur de 80%, ce qui permet d'être protégé par la vaccination individuelle mais également par protection collective des individus. Il existe néanmoins différentes efficacités selon les vaccins utilisés. C'est l'exemple de S19 qui sera plus efficace dans le cadre de la vaccination chez les bovins, que chez les ovins et caprins.

## 2) Historique de vaccination en France depuis 1975 :

Depuis 2002, l'arrêté du 15 mars 2002 décrit qu'il est nécessaire d'avoir recours à l'abattage des individus d'un troupeau infecté par *Brucella suis*, peu importe le biovar identifié. Puis en 2005, un nouvel arrêté est mis en place établissant les différences entre le biovar 2 (peu pathogène pour l'Homme), et les biovars 1 et 3 (très pathogènes pour l'Homme). De plus cet arrêté encadre les conditions d'élevage des porcs, et les enclos qui peuvent être source de contamination entre la faune sauvage et domestique s'ils ne sont pas distancés.

La reproductivité des porcs étant affecté par *Brucella*, les éleveurs doivent surveiller l'avancée de l'épidémie afin qu'elle ne contamine pas tout le troupeau. *Brucella melitensis* reste plus pathogène pour l'Homme que *Brucella suis* biovar 2, mal gré cela, la prophylaxie anti-brucellique doit être respectée. *Brucella suis* est surtout crainte par les patients immunodéprimés, entraînant une forme sévère chez ces patients.

Depuis plusieurs années, l'épidémie de brucellose animale est en régression grâce à

l'avancée des mesures prophylactiques (surveillance des cheptels par la sérologie), et vaccinales. C'est pourquoi la vaccination a été importante en 1975, quand beaucoup de cheptels bovins étaient contaminés par *Brucella melitensis*. Les animaux d'un troupeau partageant le même environnement, rendait la contamination plus importante. C'est pourquoi cette année là, la vaccination bovine anti-brucellique a été rendue obligatoire, afin de contrôler l'épidémie. Par la suite, l'obligation a également concerné la vaccination anti-brucellique caprine en 1977, et ovine en 1981. Suite à cette vaccination de masse, une régression nette de l'épidémie s'est produite, d'où le fait qu'en 1984, seul 0,5% des troupeaux bovins étaient touchés par la maladie. Par conséquent, l'intérêt d'utiliser la vaccination sur les bovins a été remis en question.

Les dépistages ont été poursuivis afin de détecter de nouveaux cas dans les cheptels bovins malgré la vaccination. Pour rappel les anticorps produits lors d'une vaccination, sont semblables aux anticorps produits lors d'une infection naturelle à *Brucella*. Ce qui provoque des résultats faussement positifs.

Dans un cheptel, lorsque la prévalence est élevée, il est primordial de mettre en place la vaccination, afin d'immuniser le plus grand nombre d'animaux contre la brucellose, pouvant induire une réduction de l'incidence de la maladie.

Par la suite, lorsque l'incidence devient plus faible, il est possible de mettre en place l'abattage des individus infectés, contribuant à éradiquer la maladie. Dans ce cas la priorité n'est plus de vacciner les individus, mais de détecter les modes de contaminations, afin de les maîtriser au mieux. La vaccination n'étant plus une priorité, les tests sérologiques dépisteront les anticorps liés à l'infection par *Brucella* n'interférant plus avec les anticorps liés à la vaccination.

C'est à ce moment précis, que les autorités sanitaires françaises décidèrent d'interdire la vaccination contre la brucellose chez les bovins en 1984. Depuis, la lutte contre la brucellose comprend la prophylaxie via la surveillance clinique et par la sérologie des individus suspects ou symptomatiques. (18)

Cette « politique » de surveillance de la brucellose animale semble être efficace pour le contrôle de cette pathologie, comme semble le montrer l'évolution de l'incidence de la brucellose dans les cheptels bovins depuis 1995 (Illustration 12).

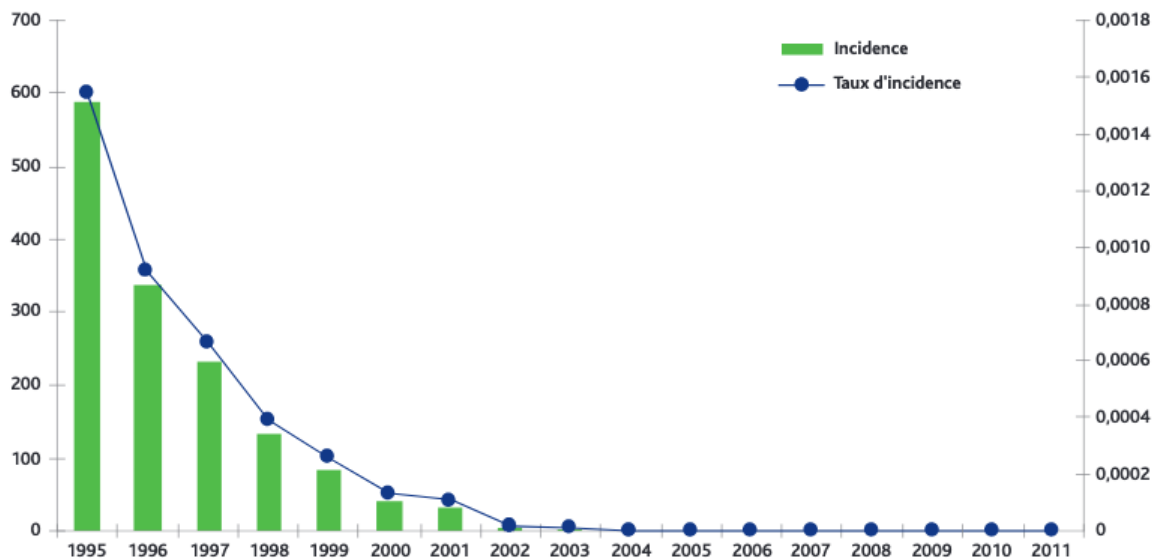


Illustration 12: Evolution de l'incidence (nombre et taux) des cheptels infectés par la brucellose chez les bovins en France de 1995 à 2011. Sur l'ordonnée de gauche : Nombre de nouveaux foyers annuels (barres), sur l'ordonnée de droite : le taux d'incidence annuel en % (points)

(29)

### 3) Vaccins anti-brucelliques chez l'animal :

Les souches utilisées en Europe ont une virulence résiduelle. Plusieurs facteurs peuvent faire varier le pouvoir pathogène chez l'animal tel que :

- l'espèce
- l'âge
- la dose
- la voie d'administration

#### a) Vaccin S19 :

La souche S19 ou encore appelé B19 sera injectée chez les bovins, et reste la référence de comparaison aux autres vaccins, puisqu'elle protège les bovins durant toute leur vie. Ce vaccin vivant est administré chez les femelles âgées de 3 à 6 mois en sous-cutané de  $5 \text{ à } 8 \times 10^{10}$  UFC (Unités Formant Colonie). La dose peut être moindre, c'est à dire de  $3 \times 10^8$  à  $3 \times 10^9$  UFC par voie sous-cutanée aux individus

adultes. Il existe une possibilité de production d'anticorps persistants, avec un passage dans le lait. Par conséquent, il est possible d'administrer le vaccin par voie conjonctivale par deux inoculations à la suite avec une dose de  $5 \times 10^9$  UFC. Ce dernier mode d'injection a démontré l'absence d'anticorps persistants, le développement d'une bonne immunité, ainsi qu'une diminution du taux d'avortement, et d'excrétion dans le lait. Son efficacité est excellente, malgré cela, le vaccin induit une réponse humorale qui est la même durant une infection, ce qui ne permet pas de différencier une vaccination d'une infection à *Brucella abortus*. (18,30,31)

De plus, ce vaccin possède un effet anti-abortif important, limitant la transmission de *Brucella abortus* lors des avortements, par le fœtus. Mais il reste tout de même possible de voir des avortements chez les vaches gravides (moins de 1% des cas). Chez les femelles vaccinées, il est possible d'avoir des effets indésirables en plus de l'avortement, comme des arthropathies, notamment au niveau de l'articulation fémoro-tibial. (31)

Pour résumer, ce vaccin apporte une bonne protection humorale chez les jeunes individus vaccinés, avec la possibilité d'effets indésirables comme des arthropathies se développant à l'âge adulte. La souche S19 ne représente donc aucun danger pour les bovins, si ce n'est qu'à l'âge adulte, il faudra utiliser une dose réduite afin de limiter les effets indésirables. (31)

Cependant, il est important de rappeler que la pathogénicité de *Brucella* envers l'homme est importante, ce qui nécessite pour l'injection du vaccin anti-brucellique chez l'animal, une protection individuelle afin de limiter le risque de projections de la souche vaccinale dans l'oeil, sur les lèvres, ou par blessure lors de la manipulation sur l'animal. Lors de manipulations du vaccin S19, il est très documenté des cas de brucellose humaine, nécessitant un traitement post-exposition. (18)

#### b) Vaccin Rev.1 :

Rev .1 contient la souche de *Brucella melitensis* vivante atténuée, visant à immuniser les ovins et les caprins de 3 à 6 mois. Le vaccin Rev-1 est majoritairement

utilisé à travers le monde, pour lutter contre la brucellose chez ces deux espèces, et reste le vaccin le plus efficace chez les ovins et caprins. La voie conjonctivale est souvent préférée à la voie sous cutanée (Illustration 13), utilisée classiquement. La raison est qu'elle entraînerait moins d'avortements et de réactions allergiques. L'administrateur doit tout de même rester vigilant à l'injection du vaccin, car le risque d'avortements des brebis gestantes reste possible. Il est donc rappelé pour cela que le vaccin doit préférentiellement être utilisé chez les jeunes individus. L'avantage de ce vaccin est qu'il entraîne une protection sérologique durant plusieurs années, sans entraîner de problèmes pour les dépistages sérologiques de l'infection chez les adultes.

De plus, l'administrateur doit être formé à l'injection, afin de limiter le risque d'inoculation, et donc de provoquer une brucellose humaine involontairement.



*Illustration 13: Photographie d'une vaccination d'un bouquetin par voie conjonctivale à la réserve zoologique de la Haute-Touche le 6 février 2017 (ANSES)*

(32)

Alton, un chercheur ayant décrit les techniques de laboratoires concernant la brucellose, a démontré qu'une dose unique à  $30.10^9$  bactéries peut suffire à induire un niveau d'immunité suffisant jusqu'à l'âge de quatre ans et demi chez les chèvres âgées de trois à sept mois, supposant donc une immunité à vie chez l'individu vacciné par cette méthode. (16,31)

c) Vaccin RB51 :

Le vaccin RB51 est composé de la souche *Brucella abortus* atténuée, avec un LPS de phénotype rugueux (R-LPS). Ce vaccin possède un intérêt, qui est l'absence de réaction sérologique post-vaccinale. Ainsi, la réponse est différente de celle d'une infection, ce qui permet de différencier par méthode sérologique la vaccination de l'infection. La dose d'inoculation recommandée chez les veaux âgés de 4 à 12 mois, est comprise entre 1 à  $3,4 \times 10^9$  UFC de RB51 selon les pays. Certains pays vaccinent une seconde fois à l'âge de 12 mois à la même dose, afin d'entraîner un rappel et une immunité à son maximum. De même que pour les autres vaccins, il existe un risque d'avortements pour les vaccinations chez les femelles gestantes. (16,30)

De plus, il existe également un risque de placentites sévères, ainsi que d'infections du placenta chez la plupart des femelles. Dans le lait il existait également le passage de bactéries, disséminant *Brucella* dans l'environnement et dans les produits laitiers. C'est pourquoi chez les adultes, la dose est diminuée par rapport à celle utilisée chez les veaux, permettant d'éliminer ces problèmes liés à l'avortement et l'excrétion des bactéries, mais nécessitant plusieurs injections. Ce dernier schéma risque fortement de mener à une interférence avec les tests sérologiques, car il augmente la production d'anticorps résiduels. (31)

B) Vaccination anti-brucellique chez l'Homme :

Actuellement il n'existe pas de vaccin anti-brucellique utilisé chez l'Homme. Il existait un vaccin français produit par l'institut Mérieux, contenant la souche *Brucella abortus* mais qui n'est plus commercialisé aujourd'hui, car la France est considérée indemne de brucellose bovine depuis 2005 ce qui a conduit à abandonner ce vaccin. Puisque le pays est devenu indemne de brucellose, les retombés économiques pour le laboratoire étaient devenues défavorables à la commercialisation de ce vaccin. A ce jour il est possible de se poser la question d'une éventuelle recherche sur le vaccin anti-brucellique humain, pouvant être utilisé chez les professionnels exposés au pathogène tels que les vétérinaires, éleveurs, mais également dans la zone

géographique du massif de Bargy, où un foyer de brucellose sévit actuellement chez les bouquetins. (18)

### C) Etat des lieux de la vaccination de la faune sauvage: Exemple chez deux espèces aux USA (Parc national de Yellowstone) :

Aux USA, le Parc national de Yellowstone a pu réaliser une vaccination anti-brucellique de masse sur les bisons (*Bison bison*) et les wapitis (*Cervus elaphus canadensis*) touchés par l'épidémie de *Brucella abortus* rapportant ainsi les mêmes symptômes que chez les bovins (avortements, épидидymites, orchites...). On suppose ainsi que les bisons sont à l'origine de l'infection chez les wapitis. Ainsi, ces deux espèces étant infectées par *Brucella*, elles sont donc devenues des réservoirs primaires de la bactérie, entraînant une possibilité d'infections d'autres espèces ruminantes à proximité. La vaccination de ces deux espèces a ensuite été évoquée, puis établie, afin de limiter la dissémination de *Brucella* dans l'environnement, et l'infection d'autres espèces, par la stimulation du système immunitaire, permettant d'acquérir une réponse immune compétente contre *Brucella*.

Chez les bisons, deux vaccins ont été testés, premièrement S19, puis RB51. S19 n'a malheureusement pas été une réussite par voie systémique, car ce vaccin a provoqué chez les femelles gravides une virulence élevée. C'est pourquoi S19 a ensuite été injecté par voie conjonctivale, mieux toléré, surtout chez les animaux qui n'étaient pas en cours de gestation. Par la suite RB51 a également été testé, et a montré une tolérance plus élevée qu'avec S19. Cependant, il peut tout de même induire une excrétion de *Brucella*. La décision finale fut de vacciner plusieurs fois les femelles gravides avec RB51, afin de diminuer l'infection sur le long terme au sein du troupeau.

Chez les wapitis, les mêmes souches ont été utilisées, mais dans ce cas présent, seul S19 s'est avéré être efficace. De plus, S19 ne semble pas pathogène envers les wapitis, car il n'a induit que très peu d'avortements chez les femelles gravides. Par contre, seul 30% de la population serait vaccinée, ce qui ne permet pas une bonne gestion de l'épidémie. S19 est un vaccin qui malencontreusement engendre une réponse sérologique, qui ne se différencie pas de l'infection naturelle, ce qui fausse



le diagnostic sérologique, et donc complique le suivi de l'épidémie chez les wapitis.

RB51 a été testé chez de nombreux ruminants sauvages de la faune américaine par voie orale, entraînant une séroconversion, sans effet secondaire visible. En effet, les animaux vaccinés, ont ingéré des microsphères d'alginate contenant la souche RB51, et serait donc efficace pour la vaccination des ruminants. Plus précisément, au niveau du tractus digestif, le vaccin est ingéré, puis la muqueuse digestive entraîne l'élimination des bactéries, ce qui diminue le taux d'effets indésirables, tout en stimulant la réponse humorale. (33)

## IX. Indemnisation des éleveurs face à l'abattage des bovins et caprins :

### A) Indemnisation d'un cheptel bovin :

Afin que les éleveurs ne ressentent pas l'impact financier de ces pertes, il existe des indemnités financières liées à l'abattage des animaux contaminés par la brucellose. D'après l'article 7 de l'arrêté du 17 juin 2009, une indemnisation est prévue en fonction de la catégorie d'animaux et de leur éventuelle inscription au livre généalogique correspondant à leur race. A savoir que le montant de la valorisation bouchère des animaux abattus est déduit du montant de l'indemnisation. Pour les bovins non inscrits au livre généalogique, il sera versé au propriétaire en fonction de sa catégorie :

- Bovins de six semaines à 12 mois : 900 €
- Bovins de 12 mois à 24 mois : 1 400 €
- Bovins de plus de 24 mois : 1 900 €

Pour les bovins inscrits au livre généalogique, l'éleveur doit présenter les pièces justificatives à la direction départementale en charge de la protection des populations, et percevra en fonction de la catégorie de l'individu :

- Bovins de six semaines à 12 mois : 1 100 €
- Bovins de 12 mois à 24 mois : 1 600 €
- Bovins de plus de 24 mois : 2 200 €

Pour les bovins mâles reproducteurs de races allaitantes, de plus de 12 mois, les montants sont revalorisés de 300€.

Les bovins femelles également allaitantes de plus de 24 mois, et gestantes de plus de 6 mois, peuvent être revalorisés jusqu'à 300€. Cette décision est prise par le directeur départemental en charge de la protection des populations.

Certains cas exceptionnels peuvent permettre d'établir un montant d'indemnité pour les individus bovins inscrits au livre généalogique et qualifiés reconnus ou

recommandés, ou encore pour les animaux de haute valeur participant à des spectacles taurins. A ce montant d'indemnisation des frais d'expertise seront déduits.

Dans le cas où des bovins seraient abattus dans le cadre d'un assainissement d'un troupeau total ou partiel suite à un arrêté préfectoral portant déclaration d'infection, l'indemnisation du propriétaire est réalisée après une estimation des individus. (34)

### B) Indemnisation d'un cheptel caprin :

Dans le cas où un cheptel caprin est soumis à des mesures d'assainissement, mais n'est pas abattu en totalité, la perte subie par individu, résultant de la différence entre la valeur estimée de l'animal et sa valeur en boucherie, est indemnisée dans la proportion de 75% avec un montant plafonné à 84 €.

A l'inverse, dans le cas où un cheptel caprin est soumis à des mesures d'assainissement, abattu en totalité, l'indemnisation de l'éleveur des individus s'effectue à partir de l'estimation des individus. (34)

### C) Cas où l'indemnisation n'est pas attribuée :

Certains cas exceptionnels ne donnent pas lieu à l'indemnisation liée à l'abattage :

- La mort d'un animal avant son abattage, qu'elle qu'en soit la cause
- Individus éliminés à la suite d'une introduction de bovins, de caprins, ou de tout autre animal au sein d'un cheptel(34)

## X. Gestion du foyer de brucellose des bouquetins au sein du massif de Bargy en Haute-Savoie depuis 2012 :

### A) Contexte :

En 2012/2013, deux cas de brucellose humaine ont été déclarés en France dans la région de Haute Savoie (74) dans le massif de Bargy, plus précisément dans la commune du Grand Bornand. Ces deux cas ont été contaminés par ingestion de fromage frais au lait cru issu d'un élevage bovin laitier. Les investigations au sein de ce troupeau de bovins ont permis de mettre en évidence la présence de *Brucella melitensis* dans le lait de vache par PCR, mais également d'avortements dans le même cheptel.

D'importantes investigations ont été menées dans la région, sur des ruminants domestiques résidents permanents ou estive, ainsi que chez les ruminants sauvages établis dans le massif de Bargy. Ces recherches ont montré la présence d'un réservoir sauvage de *Brucella melitensis* biovar 3 au sein de la population de bouquetins (*Capra ibex*) du massif de Bargy dans les Alpes. Il a été supposé que ce cheptel aurait pu jouer le rôle d'un réservoir, assurant un relais « silencieux » entre le dernier foyer domestique datant de 1999 et celui de 2012. Ce cheptel avait comme symptômes des arthrites et orchites principalement, ainsi que des avortements chez les femelles. Il en est déduit que les bouquetins de Bargy survivent correctement à l'infection, ce qui permet à la bactérie de se disséminer facilement à l'intérieur du massif.

Le bouquetin est un animal difficile à étudier dans son milieu sauvage, difficile d'accès à l'Homme. A cela s'ajoute que les femelles sont plus touchées par la brucellose que les mâles. Elles ont tendance à se réfugier en hauteur, dans les falaises pour protéger leurs petits, les cabris.

En 2013, ce cheptel était composé de 300 à 350 individus, voyageant sur le massif de Bargy, voir le massif Almet (massif voisin), avec possibilité d'infection d'autres espèces vivant sur ces massifs. C'est pourquoi l'ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) a mené de nombreuses investigations au sein de ce cheptel de bouquetins, afin de caractériser ce foyer et de limiter la dissémination

de la maladie. De plus l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation et de l'Environnement et du travail) a donné lieu à plusieurs saisines, de 2013 à aujourd'hui, à propos des risques de transmission à travers les troupeaux d'animaux domestiques et à l'Homme, mais également sur l'analyse, et l'évaluation de la gestion de l'infection.

Le bouquetin dispose d'un statut particulier au sein de la faune sauvage en Europe, et en France. Anciennement chassé au point d'avoir pratiquement disparu hors du massif italien du Grand Paradis, il a ensuite fait l'objet de mesures de conservations en Europe. Il fut choisi comme emblème en Vanoise, dans le premier parc national Français, ce qui a eu un impact dans la lutte pour sa conservation. Cette espèce fut longtemps considérée au bord de l'extinction, mais a pu bénéficier d'un statut particulier, améliorant la situation, et renforçant l'attachement des milieux conservacionnistes à cette espèce. (18,35,36)

## B) Séroprévalence des bouquetins de Bargy depuis 2013:

Les effectifs sélectionnés de façon aléatoire, se sont fait à partir de sept itinéraires pédestres. Les animaux sélectionnés reflètent la séroprévalence du massif de Bargy. Les résultats sont donc reportés dans le tableau suivant après avoir dépisté les individus sur le terrain :

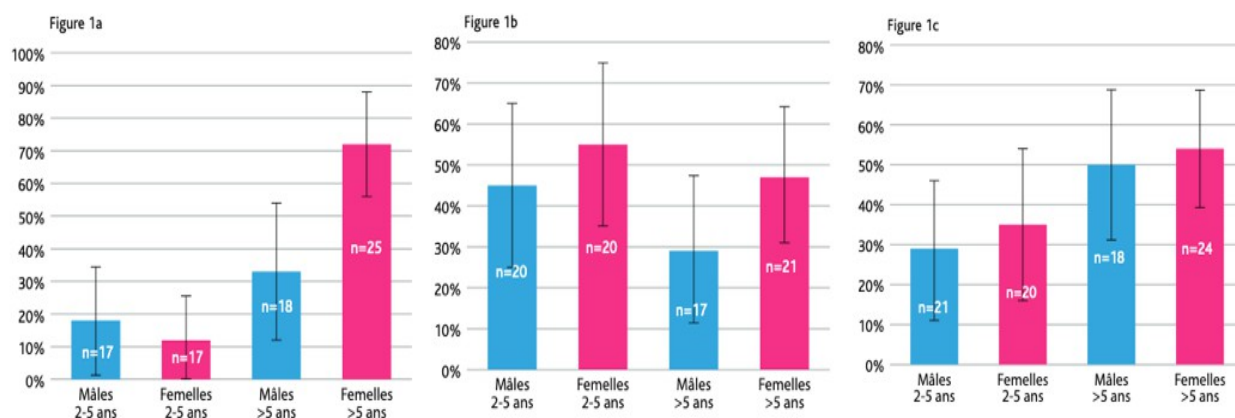


Illustration 14: Distribution de la séroprévalence chez les bouquetins du massif de Bargy en fonction de l'âge, et du sexe des individus (et intervalle de confiance à 95%) en 2013 (figure 1a), en 2014 (figure 1b) et en 2015 chez 83 bouquetins capturés (figure 1c)

(37)

En 2013, les individus âgés de 5 ans et plus avaient une prévalence plus élevée que

les individus plus jeunes. Cette prévalence était plus marquée et de façon évidente chez les femelles notamment les plus âgées. En 2014, après une saison de rut, la séroprévalence a nettement augmenté chez les jeunes mâles et femelles, ce qui montre que la dissémination bactérienne de *Brucella melitensis biovar 3*, continue au sein du massif de Bargy depuis 2013. Au contraire en 2015, la séroprévalence entre les jeunes et les plus âgés semble s'inverser par rapport aux données de 2014. Même si les données de 2015 ne sont pas très significatives par rapport à celles de 2014.

En 2015, 42% d'animaux étaient toujours séropositifs, malgré une stabilisation de l'état sanitaire du massif de Bargy, la pathologie sévit toujours à l'heure actuelle au sein du cheptel. (37)

### C) Evaluation du risque de la contagion entre la faune sauvage et domestique :

L'urgence de la situation sanitaire en 2013 a mobilisé les ministères de l'agriculture et de l'écologie permettant de rendre un premier avis de l'ANSES. Cet avis déclaré précocement et incomplet par rapport aux données disponibles, a permis de mesurer les différentes gestions possibles du foyer dans le massif de Bargy. A la fin de l'année 2013, les autorités sanitaires ont adoptées des mesures drastiques permettant de limiter la dissémination de la maladie. Il s'agissait d'abattre les individus de 5 ans et plus, car considérés comme les plus touchés par la brucellose, ils contribuaient au foyer brucellique. (38)

#### 1) Evaluation de l'émission de brucelles par *Capra ibex* au sein du massif de Bargy :

Les autorités sanitaires ont étudié les espèces sauvages du massif de Bargy, en prenant compte leur niveau d'excrétion des individus infectés, mais également la densité des populations. Des séroprévalences chez certaines espèces chassables ont été révélées, comme le chamois mais en revanche aucun cerf, ni aucun chevreuil. Au contraire chez le bouquetin, la séroprévalence était à hauteur de 37% sur 71 individus capturés de façon aléatoire. Cette capture s'est effectuée de manière à respecter un échantillonnage homogène entre les femelles et les mâles,

ainsi qu'en fonction de l'âge, qu'il soit jeune ou vieux (plus de 5 ans). La séroprévalence révèle une importante contamination chez les individus plus âgés (55% chez les plus de 5 ans contre 15% chez les individus jeunes). Parmi les plus jeunes individus positifs à la brucellose, le plus jeune été un mâle âgé de 2 ans et 10 mois. Les autorités sanitaires en ont ainsi conclu à une circulation active et dynamique de *Brucella melitensis* biovar 3 dans cette population de bouquetins.

Parmi cette capture de bouquetins, sept individus ont été ajoutés mais abattus de façon ciblée, à cause d'arthrites, et/ou d'orchites brucelliques, chez qui l'infection a été confirmée bactériologiquement. C'est pour cela qu'une contamination par voie vénérienne est le principal mode de contamination retenu chez cette espèce.

Après avoir autopsié les animaux positifs à *Brucella melitensis*, la bactérie a été isolée dans plusieurs sites de prélèvement, notamment au niveau de l'urine, du prépuce, des mamelles, des testicules, et par écouvillonnage vaginal, renforçant le caractère de la transmission vénérienne chez les bouquetins. Il est bien connu que l'espèce caprine excrète *Brucella melitensis* de longtemps et en grande quantité lorsque celle-ci est infectée. *Capra ibex* appartenant au même genre, il est donc supposé que les bouquetins auraient les mêmes caractéristiques une fois contaminés.

Face à l'ampleur de cette infection, 31 bouquetins ont été capturés dans le massif voisin des Aravis, et 11 bouquetins capturés dans Sous-Dine, qui ont tous été séronégatifs à la brucellose, montrant que ces massifs sont pour le moment non infectés. C'est pour cela qu'un comptage des populations de bouquetins du massif de Bargy étant mis en place depuis 1999, a permis de mesurer l'évolution du nombre d'individus. En 1999, un dénombrement de 307 animaux fut établi, puis 289 en 2013, ce qui montre une certaine stabilité de la population des bouquetins depuis 14 ans. Toute fois, dans les autres massifs, il a été montré une surdensité des bouquetins, qui n'est pas retrouvée dans le massif de Bargy. C'est pourquoi il est possible d'émettre l'hypothèse selon la quelle les populations des bouquetins du massif de Bargy sont régulées par *Brucella melitensis*.

Enfin, les autorités sanitaires ont conclu qu'en fonction de la densité de population de bouquetins, du taux de prévalence, et du potentiel d'excrétion des brucelles par les bouquetins, le risque d'émission est retenu entre 7 (assez élevé) et 8 (élevé) sur une échelle de 0 à 9. (38)

## 2) Le risque de contamination face à l'exposition :

L'exposition des ruminants domestiques est fonction des contacts directs ou indirects entre les animaux sauvages et domestiques. Cela va dépendre également de la survie de *Brucella melitensis* au sein du milieu où elle se trouve comme dans les pâturages par exemple, côtoyés par les ovins, et les caprins. Il a été retenu que la transmission par la voie vénérienne pour les bouquetins aux ovins, caprins, cervidés et chamois est quasiment nulle. La transmission peut se faire par contacts rapprochés, par succession d'animaux dans les paturages, par les sites d'alimentations et d'abreuvements contaminés. Au contraire la transmission vénérienne est importante envers les caprins puisque des espèces hybrides caprins-bouquetins ont été observées dans les massifs voisins du massif de Bargy.

La transmission indirecte s'effectue principalement chez les bouquetins par voie vénérienne, également durant la période de mise-bas (aux alentours du mois de juin) ou dans les semaines qui précèdent pour l'avortement des femelles, constituant les principales sources de contamination de l'environnement. Les bouquetins ont la capacité de s'établir dans les zones rocheuses difficiles d'accès à l'Homme et aux animaux domestiques, notamment pour la mise-bas des femelles gravides. Or, cela n'est pas valable pour les femelles qui avortent, sans oublier les écoulements et produits corporels restant sur le sol à contaminer l'environnement pendant plusieurs jours.

Le résultat étant qu'aucun cas quasiment de brucellose domestique fut détecté, excepté chez un bovin d'un cheptel d'une centaine d'individus, et cela en 13 ans, et un cas d'une espèce chassée : un chamois parmi 55 individus testés, laisse entendre que la transmission interspécifique de *Brucella melitensis* biovar 3 à partir du réservoir constitué par les bouquetins du massif de Bargy reste un événement très rare, exigeant une contamination massive de l'environnement, comprenant les produits d'avortement des femelles, l'excrétion de produits corporels d'individus contaminés. De plus la survie de *Brucella* dans l'environnement est plus courte, puisqu'elle est exposée au climat montagnard : très ensoleillé et ouvert.

C'est pourquoi, il sera considéré que la transmission s'effectue majoritairement par voie vénérienne, et secondairement par contact avec les produits d'avortement, mais reste faible pour les autres espèces côtoyant les bouquetins, surtout pendant la période estivale. (38)



### 3) Le risque de transmission :

Le risque de transmission se calcule en utilisant les deux dernières probabilités (le risque d'émission et l'exposition), également sur une échelle de 0 à 9 : 2 (minime) pour les bovins, 3 (extrêmement faible) pour les ovins, et de 3 à 5 pour les caprins. Dans le cas où les probabilités sont faibles, la présence du réservoir sauvage de *Brucella melitensis* biovar 3 chez les bouquetins ne permet pas d'exclure une éventuelle nouvelle contamination d'animaux domestiques, ou encore sauvages. Cette raison, suffit à maintenir la surveillance renforcée des animaux domestiques, et sauvages. (38)

En 2013, l'avis rendu par l'ANSES révèle une prévalence de 37% d'individus séropositifs sur 71 animaux capturés aléatoirement sur 300 animaux vivants dans le massif de Bargy. Un seul cas de brucellose bovine en 13 ans, laisse supposer que le pathogène circule au sein des hardes de bouquetins du massif, et provoque rarement des événements de contaminations extérieures à leur cheptel, cela en dépit du haut taux de prévalence détecté chez les bouquetins. Le risque de contamination, concerne uniquement les troupeaux domestiques bovins, ovins et caprins, exposés en saison d'estive. C'est pourquoi, les troupeaux bovins, sont mis sous surveillance mensuelle : un dépistage mensuel sur lait de mélange des troupeaux, suivant le retour de la période d'estive pour les bovins âgés de 12 à 24 mois 15 jours après leur retour, suivi d'un second contrôle. L'éleveur doit également contrôler les individus qui seraient destinés à la vente pendant la période d'estive. Ces méthodes permettent d'identifier et de maîtriser le risque pour la santé publique. Il est donc recommandé de réaliser un contrôle systématique des animaux, y compris les génisses de 12 à 24 mois, dont la vente est prévue pendant la période d'estive. (38)

### D) Mesures de maîtrises de la brucellose chez *Capra ibex* :

Cette situation extrêmement sensible qui se joue à l'heure actuelle au niveau du massif de Bargy, divise les avis entre la communauté scientifique, les enjeux sociaux et politiques. Chaque aspect doit être pris en considération, afin de respecter la politique de conservation de l'espèce *Capra ibex* mais de contribuer à l'éradication

de la brucellose.

En principe, l'éradication du pathogène chez l'animal repose sur l'abattage systématique, concernant souvent le troupeau dans sa totalité. Cette solution ici est éthiquement, et difficilement possible à mettre en place puisqu'il s'agit d'une espèce sauvage, vivant dans des milieux très reculés, dangereux et difficiles d'accès à l'Homme. De plus, rappelons que le bouquetin est une espèce protégée, notamment par des politiques de conservation de la nature, et sanitaires, qui n'ont pas préparé l'éventualité d'être touchées par une zoonose telle que la brucellose. C'est pourquoi l'épidémie actuelle qui sévit au cœur du massif de Bargy, nécessite de repenser l'organisation de ces politiques qui doivent travailler ensemble et non plus de façon séparée. A ces deux politiques se joint la politique de la montagne, une troisième politique territoriale constituée de caractéristiques spécifiques, ainsi qu'une image nécessitant d'être préservée. (36)

C'est l'exemple des productions de fromages locaux au lait cru, comme le reblochon en Haute-Savoie qui est un emblème, contribuant à la continuité de l'existence des éleveurs de montagne.

Pour rappel, la transmission de la brucellose au sein du massif de Bargy pour les bouquetins fait intervenir :

- La transmission vénérienne au moment du rut chez les mâles
- La transmission par contact avec les produits d'avortements (avortons, produits utérins)
- La transmission de la mère au cabri par la gestation ou par la lactation

A cela, se rajoute la période de l'année prenant en compte les comportements (transhumance), les activités ou encore regroupements d'animaux.(36)

Des mesures de biosécurité ont pu être mises en place, visant à diminuer la transmission de *Brucella* vers les cheptels domestiques déjà cités, évitant l'agrégation auprès des pierres à sel, augmentant la présence de chiens de berger afin d'éloigner les animaux sauvages, mais également de gérer la rotation des pâtures lorsqu'un troupeau est mis à l'herbe, ainsi qu'empêcher l'accès des troupeaux aux zones sauvages, telles que les zones rocheuses que les femelles bouquetins utilisent pour la mise bas.

A ces mesures s'ajoutent des scénarios de gestion retenus par les experts, permettant d'améliorer le risque sanitaire :

- Suivi de la population des bouquetins au sein du massif de Bargy sans euthanasie, avec une option de vaccination, entraînant un protocole de suivi sur plusieurs années.
- Abattage des bouquetins positifs à la brucellose, et marquage des individus séronégatifs, avec une option de vaccination, entraînant plusieurs années également de mise en place.
- Abattage des bouquetins positifs, marquage des bouquetins séronégatifs, suivi de l'euthanasie de bouquetins non marqués en fin de saison, avec une option de vaccination, s'étalant cette fois ci sur une année.
- Euthanasie de masse de la population de bouquetins du massif de Bargy, réalisé sur une année.

Ces 3 premiers scénarios différents prennent en compte une mesure qui leur est commune, il s'agit de la poursuite de la surveillance de la population des bouquetins, du massif de Bargy ainsi que les massifs voisins. La surveillance doit permettre d'évaluer les variations épidémiologiques et démographiques de la population des bouquetins afin de montrer tout changement du risque de contamination, et d'adapter la gestion de la surveillance si besoin. Dans les massifs voisins, aucune surveillance n'est mise en place en 2014, c'est pourquoi il est nécessaire de mettre en place une surveillance brucellique, afin de vérifier l'évolution sanitaire dans les années à venir. Les autres espèces en contact avec les bouquetins doivent également être surveillées, notamment les ongulés de montagne. Néanmoins, les différents scénarios montrent qu'actuellement seul le massif de Bargy est contaminé par la brucellose. Les massifs voisins sont donc indemnes de brucellose à l'heure actuelle. (36)

En 2013, la campagne de capture des bouquetins débute afin d'effectuer le marquage des individus séronégatifs. La capture d'un individu (Illustration 15) permet de mettre en place sur l'oreille une boucle permettant d'identifier un animal séronégatif à distance.



*Illustration 15: Bouquetin capturé en 2013 dans le massif de Bargy subissant un prélèvement sanguin en vue de son statut sérologique envers la brucellose*

(39)

De plus un collier GPS ou un émetteur VHF (émetteur d'ondes radioélectriques) est mis en place au cou de l'animal, ce qui permet de le localiser, et d'ainsi étudier ses déplacements au sein du massif de Bargy, et de mieux connaître l'état sanitaire du cheptel. (Illustration 16)



*Illustration 16: Lâcher d'un bouquetin mâle par des agents de terrains, préalablement capturé pour l'équiper de boucles auriculaires manifestant son statut séronégatif vis à vis de la brucellose, et équipement d'un collier GPS dans le massif de Bargy en mai 2015*

(39)

A la suite du marquage des individus, les individus de plus de 5 ans sont abattus de façon à diminuer l'exposition chez les adultes. 251 individus sont abattus entre l'automne 2013 et le printemps 2014, sur une population estimée à 567 individus. Depuis 2014, les captures ont permis de suggérer que la situation ne s'est pas améliorée. En effet, la proportion de bouquetins séropositifs n'a pas diminuée, au contraire il semble même que la proportion ait augmenté chez les plus jeunes. L'hypothèse émise est que les plus jeunes ont accédé à la reproduction, à la suite de l'abattage des adultes. De ce fait, la transmission par voie vénérienne reste l'hypothèse retenue comme transmission majoritaire. Malgré cela, les agents de terrain ont fait état d'une structuration spatiale de la maladie : certains secteurs seraient plus touchés que d'autres. (39)

## E) Problématiques de gestion :

### 1) Problématique liée à la vaccination :

A ces mesures s'ajoute l'éventuelle possibilité de vacciner les bouquetins du massif de Bargy. Cette option entre dans la lutte de l'éradication de la brucellose, mais forme une problématique à elle seule.

Premièrement, aucune vaccination chez le bouquetin contre la brucellose n'a eu lieu à ce jour, en 2019. Il existe néanmoins une proximité phylogénétique de *Capra ibex* avec la chèvre. C'est pourquoi il est possible d'émettre l'hypothèse d'une vaccination des bouquetins du massif de Bargy à partir du vaccin Rev. 1 utilisé chez la chèvre, chez qui l'innocuité et l'efficacité ont été prouvées.

Il est important que cette hypothèse soit émise, puisque la vérification de cette innocuité et efficacité, serait difficilement mise en place, à cause des protocoles expérimentaux longs. Après la vaccination chez le bouquetin, il serait nécessaire d'attendre l'âge de maturation sexuelle afin d'évaluer la contamination. Outre cela, le bouquetin est une espèce sauvage difficile à capturer, et vivant dans des milieux très escarpés. Si un vaccin anti-brucellique spécialement conçu pour la vaccination de l'espèce des bouquetins devait être élaboré, un laboratoire de niveau 3 de biosécurité devait se charger de l'expérimentation.

Le vaccin Rev.1 reste un vaccin anti-brucellique de référence pour les chèvres, à une dose de  $0,5-2 \times 10^9$  UFC administré par voie conjonctivale. Transposé au bouquetin, cette méthode de vaccination serait idéale afin de réduire l'infection au sein du cheptel. Accompagné des mesures de biosécurité, la transmission serait certainement diminuée. Néanmoins, les conditions de vaccinations en milieu sauvage sont moins bien contrôlées qu'en milieu domestique, ce qui entraîne une diminution de l'efficacité globale vaccinale alors qu'il est nécessaire d'obtenir une couverture vaccinale suffisante, située entre 70 et 95%, afin de procéder à l'éradication de la zoonose. (35)

### 2) Problématique liée à la capture et aux interventions sur les bouquetins :

Compte tenu du nombre d'individus vivants dans le massif de Bargy, il est difficilement envisageable de capturer la totalité des individus du cheptel. A cela

s'ajoute la difficulté d'approche des individus vivants dans des milieux non fréquentés par l'Homme, tels que les massifs rocheux, avec parfois des animaux séjournant sur des falaises escarpées.

Il reste néanmoins possible d'abattre les animaux à une distance plus grande que celle de la capture. Cette distance peut s'étendre jusqu'à 250m. La capture peut s'effectuer jusqu'à une distance de 25m par télé-anesthésie (s'utilise avec un fusil hypodermique). Dans le cas où l'abattage massif serait requis, le pourcentage d'animaux n'atteindrait pas les 100%. Au mieux il pourrait s'approcher des 90% d'animaux abattus selon les experts.

Parmi tous les scénarios envisagés et étudiés, tous requièrent la nécessité de faire venir du personnel sur le terrain, habilité à travailler en zone montagneuse et parfois dangereuse. De plus, la manipulation d'animaux doit se faire par un personnel pouvant porter des charges lourdes, à cause du poids des bouquetins pouvant aller jusque 70kg pour un mâle et 125kg pour une femelle. A cela s'ajoute les mesures préventives, qui viennent limiter la contamination, puisque les animaux peuvent être potentiellement contaminés. Ceci représente donc un risque non négligeable pour le personnel de terrain. (35)

## F) Rôles de la structuration socio-spatiale et de la génétique dans l'infection brucellique chez *Capra Ibex* :

### 1) Structuration socio-spatiale de l'infection au sein du massif de Bargy :

Des individus du cheptel ont été équipés de colliers GPS (28 femelles et 23 mâles), l'étude de leurs déplacements au sein du massif ont été étudiés. Les analyses révèlent que chez les femelles, au moins 5 sous-unités spatiales sont définies (Figure n°19), ce qui met également en évidence que les femelles restent sur un secteur déterminé, et n'ont que peu ou pas d'échanges avec les femelles des autres sous-unités. Ainsi, il est distingué des femelles qui vivent sur des rochers de Leschaux et la pointe d'Andey au nord du massif, qui est la zone la moins touchée par la séroprévalence (10 à 20%) avec d'autres femelles vivants sur une zone s'étendant du roc de Charmieux au Buclon. D'autres encore au sein du pic de Jallouve et le lac de Peyre qui fait partie des zones les plus touchés (plus de 50%).

Quelques-unes partagent avec les mâles également équipés de collier GPS, le versant sud du Grand Bargy (qui est également touché à plus de 50%), mais également le petit Bargy, moyennement impacté (environ 35%). Deux secteurs se divisent donc, en zone cœur (zones 3 et 4 sur l'illustration 17) et périphérique (zones 1, 2, et 5 sur l'illustration 17).

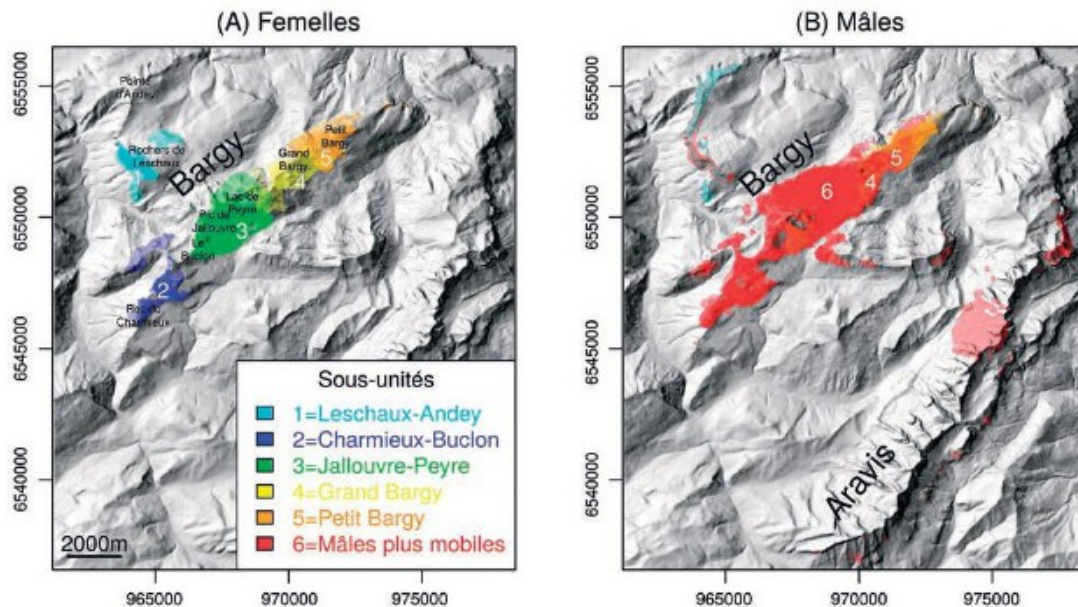


Illustration 17: Distribution géographique de la population des bouquetins du massif de Bargy suivis par collier GPS chez les femelles et les mâles

(39)

Les mâles semblent occuper les mêmes zones que les femelles, mais se révèlent beaucoup plus mobiles que les femelles. Leurs mouvements sont centrés une partie de l'année sur le secteur utilisé par les femelles : le Grand Bargy. Le reste de l'année, ils transitent aussi entre les sous-unités utilisés par les femelles, notamment au moment du rut. Ces analyses permettent de mettre en lumière une ségrégation socio-spatiale des groupes de femelles. Cet élément est déterminant pour expliquer les variations de séroprévalence de la brucellose au sein du massif de Bargy, car comme on le rappelle les femelles transmettent le pathogène par leur produits corporels, leurs produits d'avortements, par voie verticale entre elle et le cabri, lors de la reproduction avec les mâles ou encore par contacts indirects avec d'autres individus notamment pour les mâles. Les femelles étant moins mobiles favorisent à centraliser l'infection au sein de leurs sous unités qu'elles occupent, tandis que les



mâles mobiles contribuent à disséminer *Brucella* au sein du massif de Bargy par leur déplacements. (39)

## 2) Rôle de la génétique chez *Capra ibex* lors de l'infection brucellique :

La dynamique épidémiologique des maladies infectieuses résulte d'une interaction complexe entre le pathogène, l'environnement et son hôte. La variation interindividuelle de la sensibilité de l'hôte souvent négligée, joue un rôle majeur dans cette dynamique. Selon l'âge, le sexe, les comportements spatiaux ou sociaux, ou encore les caractéristiques génétiques des individus, certains caractères contribuent plus que d'autres à la propagation du pathogène en cause. La prise en compte des composants génétiques de l'individu permet d'améliorer la surveillance épidémiologique, ainsi que la gestion des maladies de la faune. Ces caractéristiques génétiques peuvent également donner lieu à une variation interindividuelle de la résistance aux maladies. Chez l'Homme ce mécanisme est particulièrement bien étudié, ce qui n'est pas le cas chez les animaux sauvages. Ces études font appel à l'immunité adaptative, avec pour principal acteur le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Celui-ci ne représente qu'une fraction de la variabilité inter-individuelle. C'est pourquoi avant que l'immunité adaptative intervienne, des gènes codant pour les récepteurs de types Toll (TLR) rentrent en jeu dans la défense de première ligne. (40)

Des chercheurs français se sont interrogés et ont travaillé en collaboration sur le rôle de la génétique sur l'infection brucellique. Après avoir étudié l'espèce *Capra ibex*, les chercheurs ont mis en évidence une infectiosité pouvant varier chez l'hôte de façon considérable en fonction de l'âge et le sexe de l'individu. La question génétique est particulièrement pertinente chez le bouquetin des Alpes, puisque cette espèce a subi un goulot d'étranglement majeur au XIXe siècle en raison d'une chasse excessive, suivi de plusieurs goulots d'étranglements successifs au cours de son histoire de réintroduction. La plupart des populations actuelles ont été rétablies il y a quelques décennies à partir d'un nombre limité d'individus fondateurs. Cette histoire de réintroduction a eu des conséquences génétiques dramatiques : toutes les populations de bouquetins présentent un niveau particulièrement faible de diversité génétique, ainsi qu'un niveau de consanguinité élevé. Les chercheurs n'ont trouvé

aucun effet significatif de l'hétérozygotie multi-locus sur le statut sérologique individuel mais ont observé des associations avec des gènes liés à l'immunité. Premièrement une relation forte entre le génotype SLC11A1 (gène codant pour une protéine macrophagique qui est associée à la résistance naturelle) et le statut sérologique de la brucellose a été mis en évidence. La prévalence diminue avec le nombre de copies de l'allèle le moins fréquent « A330 ». Cet effet était clairement plus marqué pour les individus porteurs de deux copies de cet allèle (individus homozygotes) mais moins clair pour les individus hétérozygotes. Ceci suggère que l'allèle « A330 » est récessif, donc ne s'exprime pas. Deuxièmement, il a été mis en évidence que l'association significative avec le génotype TLR1 chez les individus homozygotes porteurs de deux copies de l'haplotype fréquent (TLR1A), avaient une probabilité plus faible d'être séropositif que les individus hétérozygotes.

Le but de cette étude est d'évaluer la diversité génétique neutre et immunitaire de la population de bouquetins du massif de Bargy, qui forment un réservoir faunique d'une épidémie persistante et virulente de brucellose. Comme prévu la population de ce cheptel établie il y a quelques décennies à partir d'un très petit nombre d'individus, présente une très faible variation génétique au niveau des loci des microsatellites neutres et présentent un seul haplotype du CMH de classe II similaire à la plupart des populations de bouquetins des Alpes occidentales. En revanche d'autres gènes liés à l'immunité impliqués dans l'immunité innée tels que les gènes des TLR (1, 2 et 4) et SLC11A1 ont maintenu le polymorphisme malgré les événements fondateurs en série survenus tout au long de l'histoire de réintroduction du bouquetin alpin. (40)

C'est pourquoi des associations significatives sont révélées entre le polymorphisme de certains gènes (TLR1 et SLC11A1) et le statut d'infection à *Brucella*, ce qui pourrait suggérer un rôle de la sélection médiée par des agents pathogènes dans leur évolution récente.

Les chercheurs se sont également intéressés aux facteurs de résistance à l'infection brucellique chez les bouquetins. L'hétérozygotie multi-locus individuelle (indicateur du niveau de consanguinité) étant plus élevée chez les bouquetins, ne confère pas un avantage de résistance à l'infection. Au contraire comme expliqué précédemment, l'association entre les gènes liés à l'immunité : TLR1 et SLC11A1, et le statut d'infection des bouquetins, serait un facteur de résistance à l'infection. Les individus porteurs de deux copies d'allèle du gène SLC11A1 étaient moins susceptibles de

développer l'infection à *Brucella*. Des associations entre SLC11A1 et l'infection à *Brucella*, ont déjà été signalées chez la chèvre domestique et le buffle d'eau. De plus, dans une expérience *in vitro*, sur des monocytes de buffle d'eau infectés par *Brucella melitensis*, ont démontré que certains variants génétiques de SLC11A1 confèrent une expression de l'ARNm de SLC11A1 plus élevée, ainsi qu'une plus grande capacité à contrôler la réplication intracellulaire de *Brucella*. L'allèle résistant « A330 » a montré une fréquence similaire dans les populations Bargy et Aravis (25 et 21% respectivement), mais est beaucoup plus fréquent dans d'autres populations alpines (54% dans le massif de Belledonne, 40% dans le Parc national du Grand Paradiso), ce qui pourrait expliquer, parmi d'autres facteurs, que le massif de Bargy soit le seul touché par l'infection brucellique pour le moment.

De plus l'haplotype le plus fréquent de TLR1 (96%) conférait un avantage de résistance contre l'infection brucellique. Cependant, l'avantage de cette résistance est relatif : bien que 92% des individus du massif de Bargy soient homozygotes pour cet allèle, 37% sont toujours séropositifs. Par conséquent, les individus porteurs de cet allèle ont une probabilité plus faible d'être infectés après un contact avec la bactérie, mais ne présentent pas de résistance totale. TLR1 interagit avec *Brucella* en reconnaissant des modèles moléculaires spécifiques associés à des agents pathogènes. Les individus porteurs de l'allèle rare TLR1B peuvent avoir une capacité réduite à reconnaître *Brucella* et donc à déclencher une réponse immunitaire adéquate.

Pour conclure, les chercheurs ont démontré des associations significatives entre les gènes liés à l'immunité (SLC11A1 et TLR1) et le statut d'infection par la brucellose chez le bouquetin des Alpes. Le statut homozygote de ces deux gènes est donc un facteur prédisposant à éviter une infection lors de l'exposition. Cette éviction de l'infection n'est pas systématique, mais représente une partie non négligeable des bouquetins séronégatifs. (40)

Depuis l'automne 2017, un arrêté préfectoral a permis de reprendre l'action initialement proposée, qui était de dépister les individus séropositifs, de procéder à leur abattage, et marquage des individus séronégatifs. La surveillance continue

toujours à l'heure actuelle, avec l'application des mesures de gestion. Fin 2018, le nombre de bouquetins au sein du massif de Bargy éliminés depuis 2012 représente un total de 464 animaux (124 séropositifs, et 340 animaux abattus par tirs indiscriminés, ciblés, ou présentant des signes cliniques). Depuis 2013, 383 individus testés séronégatifs, ont été marqués et relâchés, dont 219 d'entre eux sont actuellement suivi par GPS. Ces différentes mesures de gestion permettent donc de maintenir l'infection brucellique au sein du massif de Bargy tout en limitant la propagation auprès des autres individus du cheptel.

## Conclusion

A travers la rédaction de cette thèse il est facile d'imaginer à quel point le danger représenté par *Brucella* peut être important. La zoonose peut devenir très facilement un enjeu de santé public majeur, notamment lorsque des cas chez l'Homme sont diagnostiqués. Les méthodes de prophylaxie, telles que l'abatage des animaux séropositifs, et la pasteurisation des produits laitiers destinés à la vente, permettent d'empêcher la propagation de la bactérie. Lorsqu'un être humain est séropositif à la brucellose, un arsenal thérapeutique permet d'aider à traiter l'infection afin d'éviter des complications comme une brucellose chronique.

A l'heure actuelle, des cas de brucellose sont toujours recensés notamment dans les pays en zone d'endémies. Ces pays, représentés par l'Asie centrale, le bassin méditerranéen, l'Amérique du Sud, font partie de secteurs d'élevage et d'urbanisation. De plus, les mesures d'hygiène ne sont parfois pas toujours bien respectées, ce qui en fait un risque pour les populations locales. C'est pourquoi l'OMS continue de s'intéresser à cette anthroozoonose tant qu'elle sévit encore chez les populations parfois les plus sensibles, et les plus exposées. La France fait partie des pays indemnes de brucellose bovine, or *Brucella abortus* fait partie des pathogènes les plus à craindre en vue de la pathologie développée, c'est une chance pour notre pays d'être indemne de cette bactérie. .

Lorsque les réservoirs sauvages sont identifiés des mesures d'intervention sont décidées par l'ANSES, avec parfois la difficulté de couvrir l'entièreté du terrain concerné. C'est l'exemple des bouquetins du massif de Bargy en Haute Savoie, où sévit actuellement un foyer de brucellose. La maîtrise de ce foyer fait intervenir du personnel habilité à travailler en haute montagne, car comme on le rappelle, cette espèce est difficile d'accès à l'Homme. L'abatage des bouquetins a permis de diminuer le nombre d'individus séropositifs, et de garder l'infection confinée au sein du massif de Bargy. A cela s'ajoute la composante génétique permettant à certains individus d'être moins sensibles à l'infection. De plus, le déplacement des bouquetins uniquement au sein de ce massif, plutôt que vers d'autres massifs permet de concentrer cette infection uniquement au sein du massif de Bargy et de limiter sa dissémination.

Même si ces mesures ne permettent pas d'aboutir à l'éradication de la brucellose chez *Capra ibex*, les experts se posent encore la question d'instaurer la vaccination chez cette espèce. Phylogénétiquement proche de la chèvre, les bouquetins de Barging, seraient éligibles à la vaccination de Rev. 1. Cette piste qui est explorée reste pour le moment une possible hypothèse de lutte supplémentaire contre la brucellose chez *Capra ibex*.

Si le système français a réussi à éradiquer toute brucellose bovine, et limiter la brucellose humaine chez l'Homme, sauf cas de brucellose lors d'infection en pays en zone d'endémie, ou encore par contact dans le milieu professionnel, ceci ne concerne qu'une infime partie des cas annuels déclarés par l'OMS. Alors, comment éradiquer la brucellose animale et humaine lorsque chaque pays ne dispose pas des moyens suffisants pour leur permettre de combattre cette zoonose ? C'est donc là que se déroule l'enjeu mondial de lutte contre les maladies infectieuses.

## **Bibliographie**

1. Gorvel J-P. Brucella: a Mr “Hide” converted into Dr Jekyll. *Microbes and Infection*. juill 2008;10(9):1010-3.
2. Madkour MM. *Brucellosis*. Elsevier; 2014. 341 p.
3. L. Rogers. *Pathology and Bacteriology*. 1899;2.
4. AVIQ. Brucellose. Sciensano [Internet]. juin 2018 [cité 3 avr 2019]; Disponible sur: <https://www.wiv-isp.be/matra/Fiches/Brucellose.pdf>
5. Maurin M. La brucellose à l’aube du 21e siècle. *Médecine et Maladies Infectieuses*. janv 2005;35(1):6-16.
6. La brucellose | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail [Internet]. [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/la-brucellose>
7. Alexandra Mailles, Véronique Vaillant (InVS). Etude sur les brucelloses Humaines en France métropolitaines [Internet]. 2007 janv [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: [http://opac.invs.sante.fr/doc\\_num.php?explnum\\_id=4036](http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4036)
8. SPF. Brucellose. Données épidémiologiques 2019. [Internet]. [cité 20 déc 2020]. Disponible sur: </maladies-et-traumatismes/maladies-transmissibles-de-l-animal-a-l-homme/brucellose/documents/bulletin-national/brucellose.-donnees-epidemiologiques-2019>
9. Maladies animales : la brucellose | Alim’agri [Internet]. [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <https://agriculture.gouv.fr/maladies-animales-la-brucellose>
10. Maisons-Alfort. Avis de l’ANSES relatif à « l’évaluation approfondie et réactualisée de mesures de maîtrise du foyer de brucellose chez les bouquetins du Bargy ». 2017.
11. Brucellose - Données épidémiologiques 2017 / Données épidémiologiques / Brucellose / Zoonoses / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Zoonoses/Brucellose/Donnees-epidemiologiques/Brucellose-Donnees-epidemiologiques-2017>
12. Freney Jean, Riegel Philippe. *Bactériologie Clinique*. 3e édition. Editions ESKA; 2019. 1744 p.
13. Balin A. La Brucellose chez les mammifères marins échoués sur les côtes françaises de la Manche de 1995 à nos jours : enquêtes épidémiologique et anatomo-pathologique. 2016;247.
14. Bervas Charlotte, Cécile Gutierrez, Sébastien Lesterle. Point sur les risques liés à la présence de *Brucella* dans l’environnement. 2006.
15. Freycon Pauline. Rôle du bouquetin *Capra ibex* dans l’épidémiologie de la brucellose à

*Brucella melitensis* en Haute Savoie. Université Claude Bernard Lyon I; 2015.

16. Marie Charlotte Elvire Hanin. Avortements et brucellose chez les petits ruminants en Albanie: Enquête sur les modalités de gestion et les conséquences financières. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort; 2017.
17. Fournier Virginie. Gestion d'un foyer de Brucellose à *Brucella melitensis* dans un élevage de bovin laitier de Haute-Savoie par les services vétérinaires. Université Claude Bernard Lyon I; 2014.
18. Jouan Matthieu. Prophylaxie de la brucellose humaine: Vers une vaccination ciblée de la faune sauvage? Étude de cas des bouquetins du massif de Bargy. [Grenoble]: Faculté de Pharmacie de Grenoble; 2016.
19. Details - Public Health Image Library(PHIL) [Internet]. [cité 6 janv 2020]. Disponible sur: <https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=1902>
20. In REMIC: Société française de Microbiologie. Société française de Microbiologie. *Brucella spp.* 2010 p. 199-202. 2010.
21. Maria-Halima LAABERKI. La Brucellose animale. Boehringer Ingelheim. juin 2019;60.
22. Johannes Francisco d'ALMEIDA. Contribution à l'étude de la brucellose bovine en république populaire du Bénin. Ecole inter-Etats des sciences et médecine vétérinaires de Dakar; 1983.
23. CMIT. Brucellose. In E.PILY: Vivactis Plus Ed. 2010.
24. Hasanain A, Mahdy R, Mohamed A, Ali M. A randomized, comparative study of dual therapy (doxycycline–rifampin) versus triple therapy (doxycycline–rifampin–levofloxacin) for treating acute/subacute brucellosis. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. mai 2016;20(3):250-4.
25. Blanc-Gruyelle A-L, Lemaire X, Guaguere A, Sotto A, Senneville E, Lavigne J-P. Un cas de brucellose atypique. Médecine et Maladies Infectieuses. mars 2017;47(2):164-6.
26. Peixu Wang, Wei Sun, Lijun Shi, Tengqi Li. Osteonecrosis of the femoral head due to brucellosis: a case report. BMC Infectious Diseases. 2020;4.
27. Ecoles nationales vétérinaires française unités de pathologie infectieuses GJ-P. La brucellose animale [Internet]. Merial; 2004 [cité 10 août 2020]. Disponible sur: [http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/veto-patho\\_infect-brucellose.pdf](http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/veto-patho_infect-brucellose.pdf)
28. Camille, Anne, Marie, Constance LE MOINE. Vaccins et vaccination chez les ovins. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort; 2009.
29. Jean-Luc ANGOT. Modification de la note DGAL/SDSPA 2010-8252 relative à la brucellose des bovins. 2010.
30. Moundji Mouna. Enquête rétrospective sur la brucellose animale et humaine au niveau de la wilaya de Bouira [Internet]. Université Blida 1; 2018 [cité 12 août 2020]. Disponible



sur: <http://di.univ-blida.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/986/1/1748THV-1.pdf>

31. Clotilde Marie Aude SIBILLE M. Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie). Ecole nationale vétérinaire de Toulouse; 2006.
32. Rossi S, Ponsart C. Point des connaissances et travaux sur le vaccin Rev1 conjonctival au 13 février 2017. :10.
33. Treanor JJ, Johnson JS, Wallen RL, Cilles S, Crowley PH, Cox JJ, et al. Vaccination strategies for managing brucellosis in Yellowstone bison. *Vaccine*. oct 2010;28:F64-72.
34. Arrêté du 17 juin 2009 fixant les mesures financières relatives à la lutte contre la brucellose bovine et à la lutte contre la tuberculose bovine et caprine | Legifrance [Internet]. [cité 7 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000020798984&dateTexte=20190413>
35. Maisons-Alfort, ANSES. Pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose. 2019 juill.
36. Maisons-Alfort, ANSES. Mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy [Internet]. 2015 juill [cité 7 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2014sa0218Ra.pdf>
37. Hars J, Bourg VL, Game Y, Toigo C, Mick V, Garin-Bastuji B. La brucellose des bouquetins du massif du Bargy (Haute-Savoie) : où en est-on en 2015 ? :5.
38. Maisons-Alfort, 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 de Bargy, Haute Savoie [Internet]. 2013 juill [cité 13 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2013sa0082.pdf>
39. Pascal Marchand, Elodie Petit, Clément Calenge, Carole Toïgo, Stéphane Anselme-Martin, Emmanuelle Gilot-Fromont, et al. Brucellose des bouquetins du massif du Bargy: des secteurs plus ou moins impactés en lien avec la structuration socio-spatiale des femelles. *Faune Sauvage* [Internet]. 3e trimestre 2018 [cité 7 sept 2020]; Disponible sur: [https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/RevueFS/FauneSauvage320\\_2018\\_Art7.pdf](https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/RevueFS/FauneSauvage320_2018_Art7.pdf)
40. Quéméré E, Rossi S, Petit E, Marchand P, Merlet J, Game Y, et al. Genetic epidemiology of the Alpine ibex reservoir of persistent and virulent brucellosis outbreak. *Scientific Reports* [Internet]. 2020 [cité 6 sept 2020];10(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41598-020-61299-2>

Université de Lille  
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2020/2021

**Nom : Cochez**

**Prénom : Laurie**

**Titre de la thèse : La brucellose : une anthroozoonose rurale à répercussions économiques et impact sur la santé publique**

**Mots-clés : Brucellose, anthroozoonose, maladie chez l'Homme et chez l'animal, transmission, répercussions économiques**

---

**Résumé :** La brucellose est une maladie provoquée par une bactérie, transmissible de l'animal à l'Homme. Chez l'Homme, *Brucella* est principalement responsable de fièvres ondulantes, et chez l'animal responsable d'avortements. L'antibiothérapie utilisée chez l'Homme permet de traiter l'infection. Au contraire chez l'animal l'infection sera éradiquée par l'abatage des animaux.

Depuis 2012 un foyer de brucellose sévit chez les bouquetins du massif de Bargy en Haute Savoie. Ce foyer fait l'objet d'une surveillance accrue afin de lutter contre la dissémination de la bactérie en question : *Brucella melitensis*.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Foligné Benoît, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

**Directeur, conseiller de thèse :** Singer Elisabeth, Maître de conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs:**

- Boucher Thierry, Pharmacien titulaire, Avion
- Carnoy Christophe, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille
- Cornuel Sophie, Pharmacien titulaire, Liévin