

ÉTUDE LÉSIONNELLE DE LA BRUCELLOSE DUE À *BRUCELLA MELITENSIS* CHEZ LE BOUQUETIN DES ALPES *CAPRA IBEX*

LESIONAL ASPECTS OF *BRUCELLA MELITENSIS* IN *CAPRA IBEX*

Par Pauline FREYCON⁽¹⁾, Yvette GAME⁽²⁾, Jean HARS⁽³⁾, Emmanuelle GILLOT⁽⁴⁾
(Communication présentée le 8 Juin 2017
Manuscrit accepté le 22 Mai 2017)

RÉSUMÉ

Suite à la découverte d'une forte séroprévalence de brucellose dans les populations de bouquetins du massif du Bargy, il est apparu indispensable d'étudier la pathogénie de la maladie afin de mieux comprendre cette relation hôte-pathogène. Des autopsies ont été réalisées entre 2012 et 2014 sur 64 bouquetins atteints, complétées par des analyses bactériologiques. Près d'un bouquetin sur trois était porteur d'au moins une lésion évoquant la brucellose et l'infection pouvait avoir plusieurs localisations chez un même animal. Les arthrites et les orchites étaient les lésions les plus fréquemment observées. La période de capture et le sexe des individus ont été identifiés comme facteurs de risque faisant varier l'atteinte lésionnelle parmi la population. La nature des lésions observées et l'isolement de la bactérie prouvent l'existence d'animaux excréteurs sans aucun signe clinique et laissent entrevoir plusieurs voies d'excrétion. Le bouquetin des Alpes semble donc, d'après la pathogénie de la brucellose, pouvoir constituer un réservoir pour *B. melitensis*.

Mots-clés : animaux sauvages, *Brucella melitensis*, anatomopathologie clinique.

ABSTRACT

After the evidence of a high seroprevalence of brucellosis in Alpine ibex populations in the French Alps (Bargy massif), it became essential to study the pathogeny of the disease in this wild ungulate. Necropsies were achieved between 2012 and 2014 on 64 affected ibex, supplemented by bacteriologic analysis. About one ibex out of three showed at least one typical lesion of brucellosis and infection could have several locations on the same animal. Arthritis and orchitis were lesions the most frequently observed. Year of capture and sex of animals were identified as risk factors for ibex to develop clinical signs of the disease. These types of lesions and isolation of the bacteria demonstrate the possibility for individuals to excrete *B. melitensis* without clinical signs and suggest various excretion routes. According to the brucellosis pathogeny, the Alpine ibex seems to be able to constitute a wildlife reservoir for *B. melitensis*.

Key words: wild animals, *Brucella melitensis*, clinical pathology.

(1) Docteur en médecine vétérinaire, IPSAV, Grand Rue 45, 2823 Courcelon, SUISSE.

Email : pauline.freycon@gmail.com

(2) Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires de la Savoie, 321 chemin des Moulins, 73000 Chambéry.

(3) ONCFS, Direction Recherche et Expertise, Unité sanitaire de la faune, 5 Allée de Bethléem, 38610 Gières.

(4) Université Lyon 1, UMR CNRS 5558 - Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, VetAgro Sup - Campus vétérinaire de Lyon, 1 Avenue Bourgelat, 69280 Marcy L'Étoile.

INTRODUCTION

Officiellement indemne de brucellose bovine depuis 2005, la France a été confrontée en 2012 à la réémergence de cette zoonose chez l'homme et dans un cheptel bovin de Haute-Savoie (France). Le plus souvent due à *Brucella abortus*, c'est pourtant le biovar 3 de l'espèce *melitensis* qui été mis en cause, biovar largement répandu par le passé dans les troupeaux de petits ruminants du Sud de la France (Verger *et al.* 1989). La population sauvage de *Capra ibex* du massif du Bargy a alors été suspectée d'avoir assuré un relais silencieux pour la bactérie entre 1999, dernière déclaration en date de brucellose dans un troupeau domestique de la région, et 2012 (Mick *et al.* 2014).

B. melitensis a rarement été isolée à partir d'espèces d'ongulés sauvages de montagne, lesquels ne semblaient donc pas pouvoir constituer un réservoir pour la bactérie (Godfroid *et al.* 2013), c'est-à-dire une espèce capable de maintenir l'infection de manière autonome (Rhyan & Spraker, 2010). Pourtant, après la découverte de nombreux cas de brucellose chez le bouquetin du Bargy, avec une séroprévalence de 38 % détectée en 2012-2013 (Hars *et al.* 2013), il est apparu essentiel d'évaluer la capacité de cette espèce à constituer un réservoir pour *B. melitensis*. La première étape de cette évaluation est de déterminer la nature de l'infection chez l'animal en tant qu'individu, autrement dit connaître la pathogénie. Les aspects lésionnels ont une importance toute particulière, en influençant les modalités d'excrétion de la bactérie mais aussi la survie de l'individu et donc la dynamique de l'infection au niveau de la population (Corner, 2006).

La pathogénie de la brucellose chez *Capra ibex* est inconnue : un seul cas a été décrit précisément dans la littérature, celui d'un mâle sévèrement atteint en Italie, présentant une orchite-épididymite bilatérale et une polyarthrite (Ferroglio *et al.* 1998). Cette étude est donc la première à décrire les lésions de la maladie chez plusieurs dizaines de bouquetins.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillonnage

Au total, 242 individus ont été échantillonnés entre 2012 et 2014, pour la majorité lors de capture par téléanesthésie, ou lors d'abattage sanitaire sur observation de signes cliniques. Tous les individus séropositifs lors de la capture (n = 59) ont fait l'objet d'une autopsie, ainsi que les individus présentant des lésions

fortement évocatrices de brucellose et abattus lors des opérations de surveillance sanitaire (n = 5, brucellose confirmée par sérologie). Au final, ces 64 individus séropositifs ont été inclus dans l'échantillon.

Autopsie

Les autopsies ont été menées par l'équipe du Laboratoire Vétérinaire Départemental de la Savoie, comprenant un docteur en médecine vétérinaire spécialisé en anatomo-pathologie. Après une première évaluation externe de l'animal, des incisions ont été systématiquement effectuées au niveau des organes connus pour être les principaux sites d'élection des *Brucella* : cavités articulaires, mamelle, testicules, nœuds lymphatiques. Des analyses bactériologiques ont été systématiquement effectuées sur ces organes et sur les autres lésions trouvées le cas échéant. Une confirmation et un typage des souches de *Brucella melitensis* ont été réalisés par le Laboratoire National de Référence (LNR) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) de Maisons-Alfort, ce LNR identifiant outre l'espèce bactérienne, le *Brucella melitensis* biovar 3 (Mick *et al.* 2014).

Définition d'un cas clinique et analyse statistique

Parmi les individus séropositifs, un animal est défini comme « atteint de brucellose clinique » lorsqu'il présente au moins une lésion caractéristique. La prévalence de l'atteinte lésionnelle a été estimée, afin d'appréhender de manière globale la répercussion que peut avoir la maladie sur la santé des bouquetins. D'autre part, les fréquences d'observation d'orchite, d'arthrite et de polyarthrite ont été calculées, afin de préciser les caractéristiques de l'atteinte lésionnelle causée par la bactérie. Afin d'identifier les facteurs de risque qui pourraient faire varier cette atteinte, les fréquences d'observation de lésions ont été comparées entre sexes, catégories d'âge et année de capture. Ces variables explicatives n'étant pas indépendantes, leurs effets devaient être testés simultanément. Pour cela, la variable « présence/absence » a été analysée à l'aide de la régression logistique, qui permet de prendre en compte plusieurs variables explicatives et de rechercher les interactions entre elles. Tous les modèles combinant ces trois variables ont été ajustés et comparés entre eux à l'aide du critère d'Akaike, pour choisir le modèle le plus pertinent. Une fois le modèle choisi et dans le but de quantifier les effets de chacun des facteurs de risque identifiés, le ratio de probabilité (ou odds ratio, OR) a alors été utilisé.

RÉSULTATS

Types de lésions et fréquences d'observation

Parmi les 64 individus de l'échantillon, 20 présentaient au moins une lésion caractéristique de brucellose clinique (**tableau 1**). Les lésions

Lésion	Individus évalués	Individus avec lésion	Prévalence	IC à 95%
Au moins une lésion	64	20	31,2%	[20,2-44,1]
Au moins deux lésions	64	13	20,3%	[11,3-32,2]
Orchite	27	8	29,6%	[13,7-50,2]
Arthrite	64	14	21,9%	[12,5-34,0]
Polyarthrite	64	7	10,9%	[4,5-21,2]

Tableau 1 : Fréquences des lésions observées évoquant la brucellose entre 2012 et 2014.

les plus fréquentes chez le bouquetin étaient les orchites et les arthrites (**figures 1 et 2**).

L'atteinte clinique ne se limitait pas souvent à une seule localisation puisque les deux tiers des bouquetins atteints étaient porteurs de plusieurs lésions (**tableau 1**).

D'autres lésions ont été mises en évidence de manière ponctuelle : abcès au niveau de nœuds lymphatiques (n=6), de la vessie (n=2), de la prostate (n=1), du ligament nuchal (n=1) et de la mamelle (n=1).

Variations dans l'observation des lésions

Analyse univariée

La probabilité qu'un bouquetin séropositif montre une forme clinique de brucellose est significativement plus élevée pour les captures de 2012-2013 (29,7%) par rapport à celles de 2014 (3,4%) (test exact de Fisher, $p = 0,024$). Cette différence est également présente en considérant uniquement les lésions d'arthrite (test exact de Fisher, $p = 0,006$).

La présence de signes cliniques chez les individus atteints est plus fréquente chez les mâles (51,8%) que chez les femelles (16,2%) (test de Chi-deux, $p < 0,001$). Cette différence significative est aussi observée pour les lésions d'arthrite seules (test de Chi-deux, $p = 0,012$).



Figure 1 : Lésion d'orchite chez un bouquetin mâle de 11 ans : hypertrophie et contenu purulent du testicule atteint (B) par rapport au testicule sain (A). (LVD73).

Concernant l'influence de l'âge des individus, les animaux de six ans et plus semblent plus enclins à développer une forme clinique de la maladie (39% contre 17,4% pour les plus jeunes). Cette différence n'est cependant pas significative (test de Chi-deux, $p = 0,073$). La prévalence des arthrites est par contre significativement plus élevée chez les animaux âgés (test de Chi-deux, $p = 0,011$).

Concernant le secteur géographique de capture, l'échantillon est très déséquilibré. La très grande majorité des cas autopsiés provenant de deux secteurs, le Reposoir et le Col de la Colombière, aucune comparaison n'a pu être effectuée.

Analyse multivariée

Le modèle le mieux ajusté aux données et le plus simple retient les effets indépendants de l'année de capture et du sexe. L'effet de l'année est marqué (OR = 27,1 pour 2012-2013), ainsi que celui du sexe (OR = 10,5 pour les mâles).

DISCUSSION

Prévalence des lésions

Près d'un bouquetin atteint sur trois présente au moins une lésion macroscopique compatible avec la brucellose. La bactérie *B. melitensis* entraîne donc des lésions tissulaires majeures chez



Figure 2 : Lésion d'arthrite chez un bouquetin mâle de six ans : lésion sur animal vivant (A), épanchement purulent lors de l'autopsie (B) (S. Anselme-Martin ONCFS ; LVD73).

le bouquetin, contrairement aux caprins, chez qui les porteurs asymptomatiques sont très fréquents (Capparelli *et al.* 2009). De plus, la maladie provoquée est, bien que chronique, souvent généralisée : parmi les bouquetins présentant au moins une lésion, les deux tiers sont porteurs de plusieurs lésions. Cette prévalence doit être néanmoins nuancée, étant donné le biais d'échantillonnage inhérent à la méthode de capture : les animaux abattus lors des opérations de surveillance sanitaire biaisent l'échantillonnage et conduisent à une surestimation de la prévalence. Par ailleurs, les autopsies étant réalisées dans un temps limité, il est également très probable que certaines lésions soient passées inaperçues lors de la nécropsie.

Nature des lésions

Les lésions identifiées chez les bouquetins brucelliques de la population du Bary sont, pour certaines, aisément visibles (arthrite, orchite) et pour d'autres, beaucoup moins (mammite, abcès). Le tableau clinique est semblable à celui déjà décrit par le passé chez *Capra ibex* (Ferroglio *et al.* 1998) et *Capra pyrenaica* (Muñoz *et al.* 2010). Néanmoins, contrairement à ces deux études précédentes, un seul individu du Bary était émâché, laissant penser que l'infection était restée chronique, sans conséquences sur l'état général de l'animal. Pourtant, la maladie semble pouvoir évoluer rapidement chez certains individus : plusieurs bouquetins capturés à environ 12 mois d'intervalle ont développé entre temps d'importantes lésions d'orchite et d'arthrite (Freycon, 2015).

Variations de l'expression clinique

Davantage d'animaux avec lésions ont été recensés en 2012 et 2013, ce qui pourrait s'expliquer par la capture des bouquetins porteurs des lésions les plus visibles dès le début de la période. Concernant les variations selon le sexe, les mâles développent des lésions plus souvent que les femelles. Ils montrent aussi des signes cliniques plus visibles (arthrites plus sévères) que ceux de femelles, pour lesquelles la brucellose clinique serait plus fruste (avortements, mammite). L'influence de l'âge disparaît dans l'analyse multivariée (possiblement confondue avec celle du sexe).

Conséquences en termes d'excrétion et de transmission

Au cours des cultures bactériologiques réalisées en parallèle de la recherche de lésion, *B. melitensis* a été isolée chez trois quarts des individus atteints de brucellose clinique (Freycon, 2015), ce qui confirme l'implication de la bactérie dans la pathologie observée au sein de la population de bouquetins du Bary. Néanmoins, elle a également été isolée chez la moitié des individus séropositifs ne présentant pas de lésion visible. Ainsi, des individus *a priori* sans signes cliniques peuvent être porteurs de la bactérie et potentiellement excréteurs. Ces résultats montrent les difficultés qui pourraient être rencontrées dans l'identification des individus à risque et donc dans la surveillance et la gestion d'un tel foyer sauvage de brucellose, si l'assainissement devait être basé sur l'élimination des individus cliniquement suspects. En ce qui concerne les voies de contamination, les lésions d'orchite laissent présumer une possible transmission vénérienne. De la même manière, les lésions du tissu mammaire chez les femelles laissent suspecter une éventuelle excrétion de bactéries par le lait et une contamination des cabris. Enfin, les quelques abcès ouverts observés, ainsi que la présence de la bactérie dans l'urine, peuvent être à l'origine d'une contamination de l'environnement, qui peut avoir son importance dans l'épidémiologie de la brucellose localement.

CONCLUSION

La brucellose chez le bouquetin apparaît comme une infection chronique, provoquant des lésions essentiellement d'arthrites et d'orchites. Du fait de ces lésions, les animaux atteints peuvent être à l'origine de la contamination de nouveaux individus et de l'environnement par de multiples voies. Cette pathogénie, associée à la présence de bactéries chez des animaux cliniquement sains, suggère que *C. ibex* peut constituer un réservoir pour *B. melitensis* et laisse entrevoir la difficulté dans la gestion d'un tel foyer sauvage de brucellose.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les agents de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), en particulier le Service Départemental de Haute Savoie, le personnel du Laboratoire Départemental Vétérinaire de la Savoie à Chambéry et celui du Laboratoire National de Référence de l'ANSES de Maisons-Alfort.

BIBLIOGRAPHIE

- Capparelli R, Parlato M, Iannaccone M, Roperto S, Marabelli R, Roperto F *et al.* Heterogeneous shedding of *Brucella abortus* in milk and its effect on the control of animal brucellosis. *J Appl Microbiol.* 2009; 106(6): 2041-7.
- Corner LA. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. *Vet Microbiol.* 2006; 112(2): 303-12.
- Ferroglio E, Tolari F, Bollo E, Bassano, B. Isolation of *Brucella melitensis* from alpine ibex. *J Wildl Dis.* 1998; 34(2): 400-2.
- Freycon P. Rôle du bouquetin *Capra ibex* dans l'épidémiologie de la brucellose à *Brucella melitensis* en Haute-Savoie. Thèse de Doctorat vétérinaire, Lyon : Université Claude Bernard-Lyon 1 ; 2015, 190p Disponible sur <<http://portaildoc-veto.vetagro-sup.fr/?q=node/119>>
- Godfroid J, Garin-Bastuji B, Saegerman C, Blasco JM.. Brucellosis in terrestrial wildlife. *Rev Sci Tech.* 2013; 32 (1), 27-42.
- Hars J, Rautureau S, Jaÿ M, Game Y, Gauthier D, Herbaut JP *et al.* Un foyer de brucellose chez les ongulés sauvages du massif du Bargy en Haute-Savoie. *Bull Épidémiol Santé anim Alim.* 2013; 60: 2-7.
- Mick V, Le Carrou G, Corde Y, Game Y, Jay M, Garin-Bastuji B. *Brucella melitensis* in France: persistence in wildlife and probable spillover from Alpine ibex to domestic animals. *PLoS One.* 2014 ; 9(4) : e94168.
- Muñoz PM, Boadella M, Arnal M, de Miguel MJ, Revilla M, Martínez D *et al.* Spatial distribution and risk factors of brucellosis in Iberian wild ungulates. *BMC Infect Dis.* 2010; 10(1): 46.
- Rhyan JC & Spraker TR. Emergence of diseases from wildlife reservoirs. *Vet Pathol.* 2010 ; 47(1) : 34-9. doi: 10.1177/0300985809354466.
- Verger JM, Garin-Bastuji B, Grayon M, Mahé AM. La brucellose bovine à *Brucella melitensis* en France. *Ann Rech Vet.* INRA Editions. 1989 ; 20 (1), 93-102.