

## Evolution récente de la situation du foyer de brucellose du Bargy et études relatives à au vaccin vivant atténué Rev.1 chez le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*)



Sophie ROSSI, Elodie PETIT, Pascal MARCHAND, Carole TOÏGO, Clément CALENGE, Sébastien LAMBERT, Yann LOCATELLI, Mickael RIOU, Bruno GARIN-BASTUJI, Isabelle JACQUES, Alain FADEAU, Maryne JAY, Claire PONSART, Emmanuelle GILOT-FROMONT, Anne THEBAULT, Antoine GREILLER, Benoit GYONNAUD, Yvette GAME, Jean-Jacques PASQUIER, Valérie LEBOURG, Joëlle VERNAY, Stéphane ANSELME-MARTIN  
(Anne VAN DE WIELE (ONCFS))

# Historique du foyer de brucellose



- Foyer sauvage *B. melitensis* biovar 3 (Bargy, Haute Savoie)
  - Cas humains de brucellose en 2012 (lait cru)
  - Une seul élevage infecté...
  - ...~38% de bouquetins séropositifs 2012-13 (Hars et al. 2013)
  - Autres espèces sauvages peu touchées (→ Elodie)
- Gestion du foyer 2012-2015
  - Test & cull sur bouquetins capturés (Hars et al. 2013, 2015)
  - Abattages massifs (2013&15) (Hars et al. 2013, 2015)
  - Pas de baisse immédiate de la prevalence (Marchand et al. 2016,2017)
  - Forte opposition citoyenne & APN

- Expertise collective (Anses 2015, ONCFS & Anses 2016)
  - Combiner vaccin et abattage?
  - Disponibilité vaccin Rev.1 vaccine (mouton & chèvre)
  - Tester innocuité Rev.1 chez *Capra ibex*

# Lettre de commande conjointe des ministères chargés de l'agriculture et de l'écologie



Ministère de l'environnement,  
de l'Énergie et de la Mer,  
en charge des Relations  
internationales sur le climat

Ministère de l'Agriculture,  
de l'Agroalimentaire et de la Forêt

Secrétariat d'Etat  
chargé de la Biodiversité

Paris, le 26 septembre 2016

La Ministre de l'environnement,  
de l'Énergie et de la Mer

Le Ministre de l'Agriculture,  
de l'Agroalimentaire et de la Forêt

La Secrétaire d'Etat  
chargée de la Biodiversité

à

Monsieur le Président-directeur général de  
l'Institut national de la recherche agronomique

Monsieur le Président du Muséum national  
d'Histoire naturelle

Monsieur le Directeur général de l'Agence  
nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,  
de l'environnement et du travail

Monsieur le Directeur général de l'Office national  
de la chasse et de la faune sauvage

Objet : Réalisation d'une évaluation expérimentale de l'innocuité du vaccin OBIREV®  
et de la réponse immunitaire chez le bouquetin des Alpes

La présence de la brucellose dans la population de bouquetins des Alpes du massif du Bargy en Haute-Savoie a été confirmée en 2012. Depuis cette détection, l'Office national de la chasse et de la faune sauvage participe, grâce à la mobilisation de ses agents de terrain et de ses personnels de la direction de l'expertise et de la recherche, à la caractérisation et à la mise en œuvre des mesures de maîtrise du risque.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a évalué dix scénarios de gestion de la maladie. La vaccination des bouquetins était l'une des solutions recommandées dans l'avis du 22 juillet 2015. Dans le rapport du 27 juillet 2016, l'Agence et l'Office national de la chasse et de la faune sauvage ont précisé que la vaccination sur le terrain nécessite d'abord d'être testée pour en confirmer l'innocuité.

Nous vous confions la réalisation de cette évaluation expérimentale en comparant des lots de bouquetins et de chèvres suivant les recommandations de l'avis 2016-SA-0146. Vous documenterez également la réponse immunitaire chez le bouquetin à l'occasion des prélèvements sérologiques au cours du suivi afin notamment d'orienter les stratégies de surveillance post-vaccination in natura.

Vous veillerez à conduire l'expérimentation et à établir les préconisations d'utilisation du vaccin in natura pour assurer la mise en œuvre de la vaccination sur le terrain au printemps 2017.

Vous nous ferez part sans délai de toute difficulté rencontrée pour atteindre cet objectif.

La ministre de l'Environnement,  
de l'Énergie et de la Mer,  
en charge des Relations  
internationales sur le climat

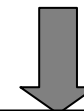
Le ministre de l'Agriculture, de  
l'Agroalimentaire et de la Forêt,  
Porte-parole du Gouvernement

La secrétaire d'Etat  
chargée de la Biodiversité

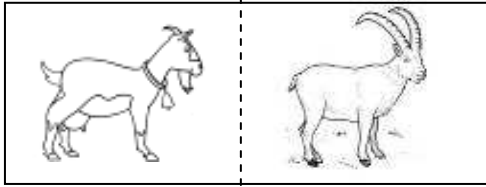
Ségolène ROYAL

Stéphane LE FOLL

Barbara POUPILI

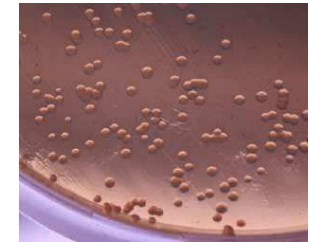


**Co-maitres d'ouvrage: MAAF (85 000€60%) & MEEM (55 000 € 40%)**

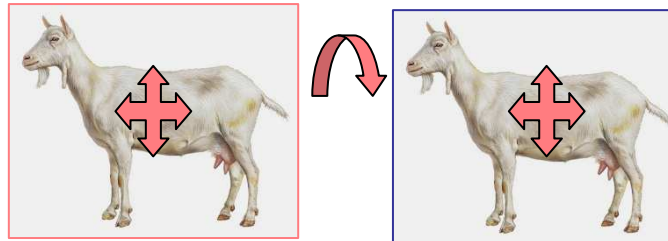


## Objectifs de l'expérimentation

### Critères d'innocuité Rev.1 (dynamique bactérienne)



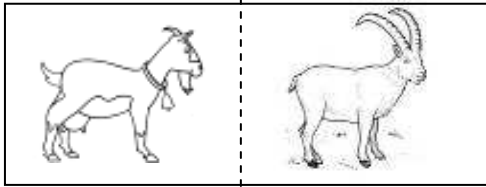
- **Capacité d'envahissement:** proportion d'organes infectés (individu), quantité de colonies isolées (organe)
- **Capacité d'excrétion:** présence (0/1) bactéries sur écouvillons
- **Capacité de transmission:** animaux contacts (conditions confinées # naturelles)



### Informations complémentaires

- **Titres des anticorps:** indicateur de contact avec le vaccin
- **Facteurs individuels:** sexe, âge, état sanitaire, état immunitaire...

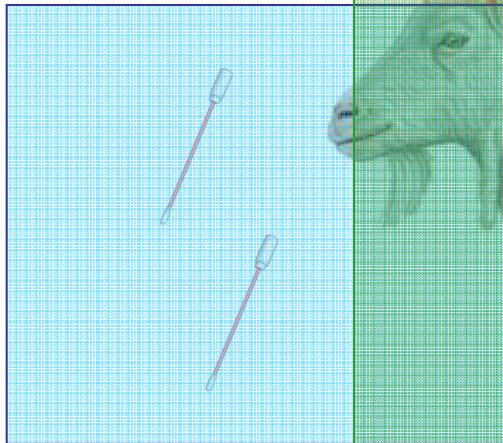




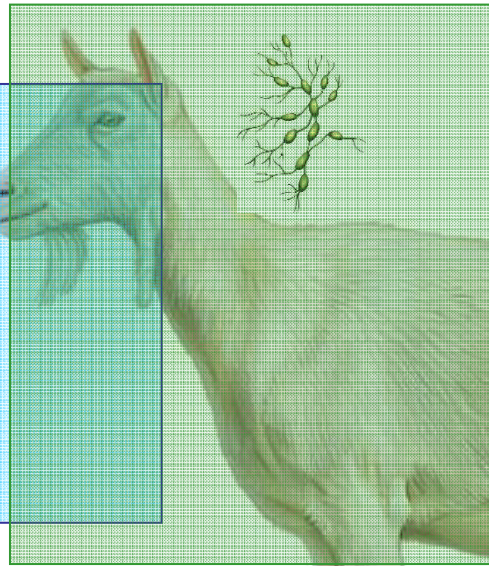
# Niveau d'envahissement et charge bactérienne des organes

collyre

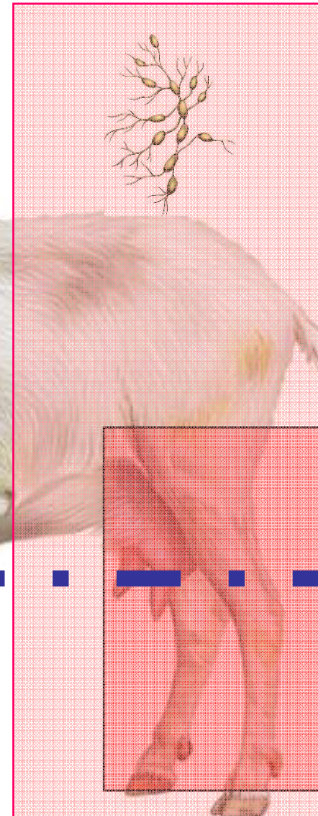
EX-head



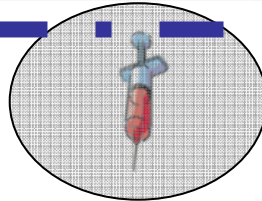
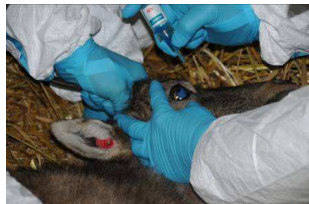
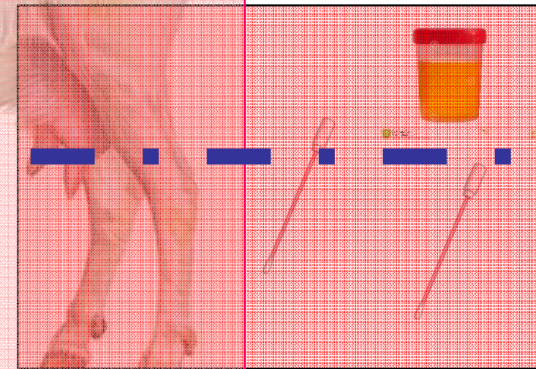
NL-head



NL-urogenit



EX-urogenit

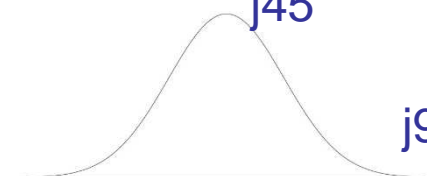


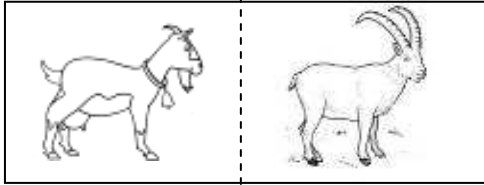
j0



j45

j90

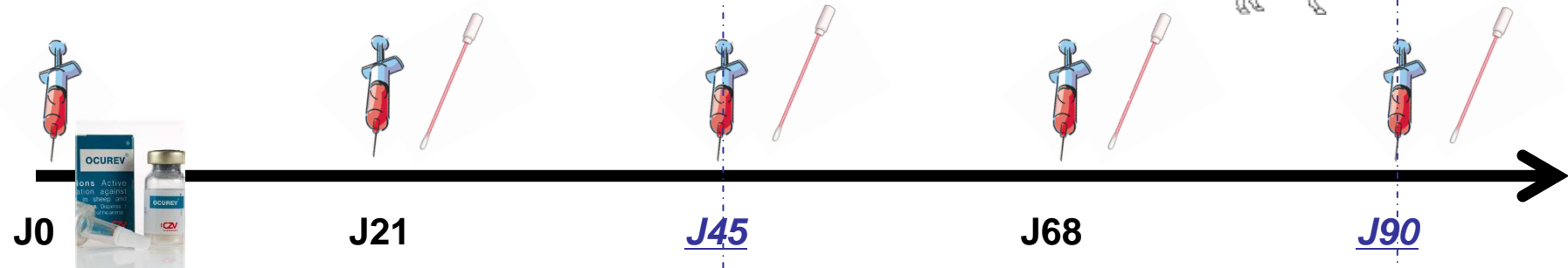




## Calendrier de l'expérimentation

**24 animaux distribués en 4 lots :**

- **12 bouquetins (6 M / 6 F), Parc de la Haute Touche**
- **12 chèvres (6 M / 6 F), PFIE INRA Nouzilly**



**4-5 vaccinés par voie  
conjonctivale**

**1-2 animaux contacts**

**Autopsie de 3 femelles  
+ 3 mâles vaccinés**

**Prélèvements de fluides  
& tissus**

**Isolement + Typage**

**Autopsie de 2 femelles +  
2 mâles vaccinés + 2  
animaux contacts**

**Prélèvements de fluides  
& tissus**

**Isolement + Typage**



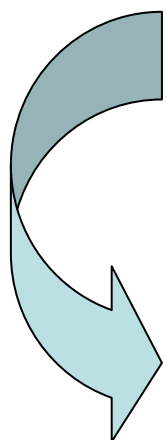
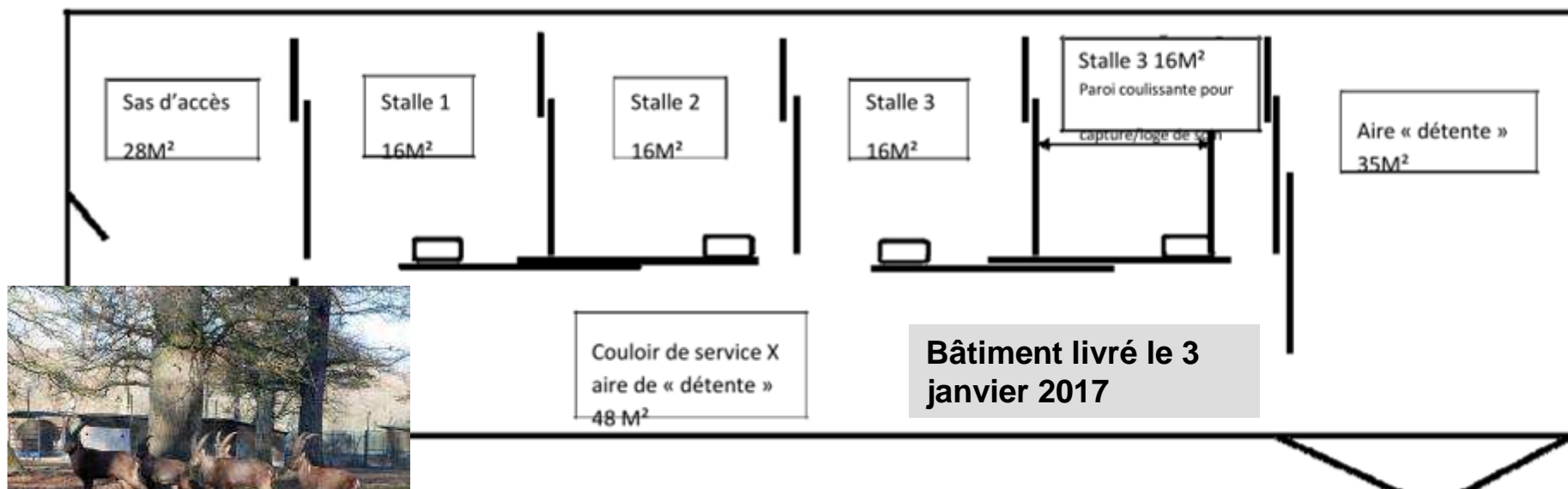
**Sérologie Brucella**



**Ecouvillons oculaires, nasaux, vaginaux, prépuçiaux**

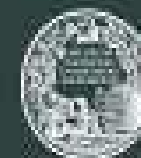
En France, la seule structure capacitaire habilitée à héberger des bouquetins et agréée pour l'utilisation des animaux à des fins scientifiques est la Réserve Zoologique de la Haute Touche qui combine les statuts de parc zoologique et de station expérimentale.

de  
et de



(R. Simmon & Y Locatelli)

Rehausse grilles,  
doublage grillage/grille



RÉSERVE ZOOLOGIQUE  
DE LA HAUTE-TOUCHE





16 janvier 2017: J+0 (19 avril 2017)



6 février 2017: J+0 (11 mai 2017)







19 avril 2017: J+90

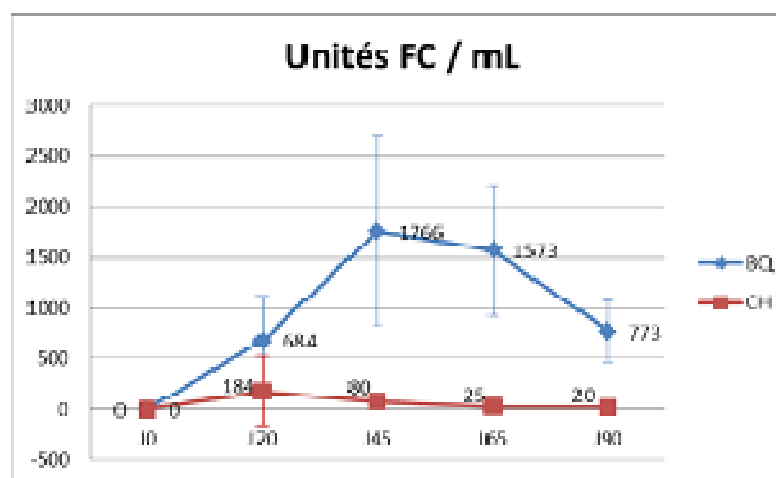


# Résultats sérologiques

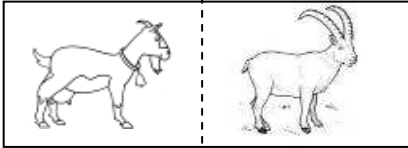


% EAT et FC positifs	J0	J20	J45	J65	J90
<b>Bouquetins</b>	<b>0</b>	<b>9/9</b>	<b>9/9</b>	<b>4/4</b>	<b>4/4</b>
<b>Chèvres</b>	<b>0</b>	<b>6/8</b>	<b>8/8</b>	<b>2/4</b>	<b>1/4</b>

Tous les animaux vaccinés ont séroconverti 3-6 semaines post-vaccination







## Proportion d'organes infectés à l'échelle individuelle

				J20		J45		J65		J90		Total
et	specie	treatment	sexe	num_al	genetic2	0	1	0	1	0	1	
	goat	contact	F	CP12	(vide)	3		3		3		20
			M	CP6	(vide)	3		3		3		20
		vaccine	F	CP10	(vide)	3		3		3		20
				CP11	(vide)	3		3		3		20
				CP8	(vide)	3		6	5			14
			M	CP1	(vide)	2	1	3		3		20
				CP2	(vide)	3		7	4			14
				CP3	(vide)	3		6	5			14
				CP4	(vide)	3		8	3			14
				CP5	(vide)	3		3		3		20
				BQ11	hetero	3		9				12
				BQ7	hetero	3		3		3		20
			M	BQ3	resistant	3		3		3		20
		vaccine	F	BQ10	hetero	3		3		3		19
				BQ12	(vide)	3		3		3		20
				BQ8	hetero	3		4	6			13
				BQ9	hetero	2	1	4	6			13
			M	BQ1	hetero	2	1	4	7			14
				BQ2	sensitive	1	2	3		2	1	20
				BQ4	resistant	1	2	4	7			14
				BQ5	resistant	3		5	6			14
				BQ6	hetero	1	2	2	1	3		20

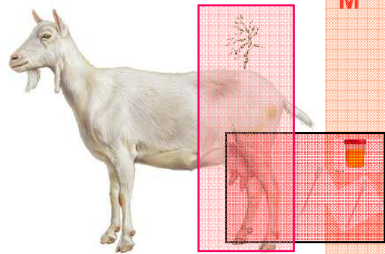
**OR<sub>ribex/goat</sub>=4.206,  
95% CI [2.413 ; 7.334]**

**OR<sub>J90/J45</sub>=0.496,  
95% CI [0.266 ; 0.924]**

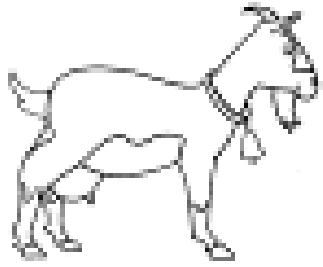


species	treatment	sexe	num_al	genetic2	J20		J45		J65		J90		Total	
					0	1	0	1	0	1	0	1		
goat	contact	F	CP12	(vide)	1		1		1		5		8	
		M	CP6	(vide)	1		1		1		5		8	
	vaccine	F	CP10	(vide)	1		1		1		4	1	8	
			CP11	(vide)	1		1		1		4	1	8	
			CP8	(vide)	1		4	1					6	
		M	CP1	(vide)	1		1		1		5		8	
			CP2	(vide)	1		5						6	
			(vide)	1		4	1						6	
			(vide)	1		5						6		
			CP5	(vide)	1		1		1		5		8	
ibex	contact	F	BQ11	hetero	1		4						5	
			BQ7	hetero	1		1		1		5		8	
		M	BQ3	resistant	1		1		1		3	2	8	
			vaccine	F	BQ10	hetero	1		1		1		3	1
	BQ12	(vide)			1		1		1		1		4	
	BQ8	hetero			1		2	2					5	
	M	BQ9		hetero	1		2	2						5
		BQ1		hetero	1		3	2						6
		BQ2		sensitive	1		1		1		3	2	8	
	BQ4	resistant	1		2	3						6		
BQ5	resistant	1		3	2						6			
BQ6	hetero	1		1		1		3	2	8				

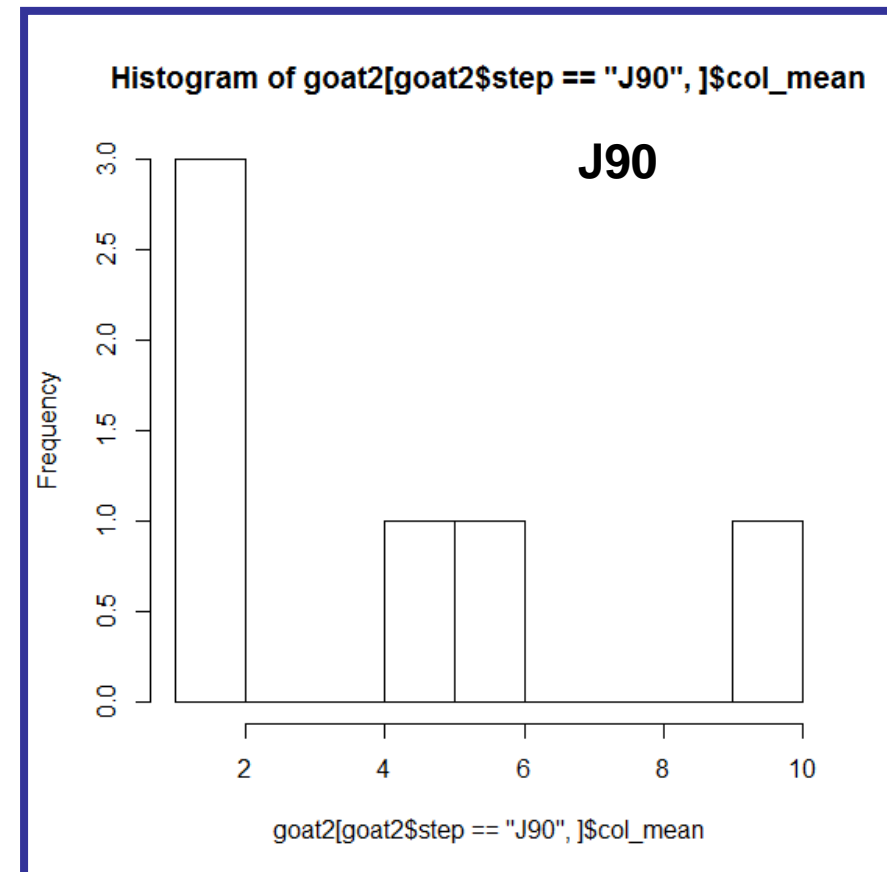
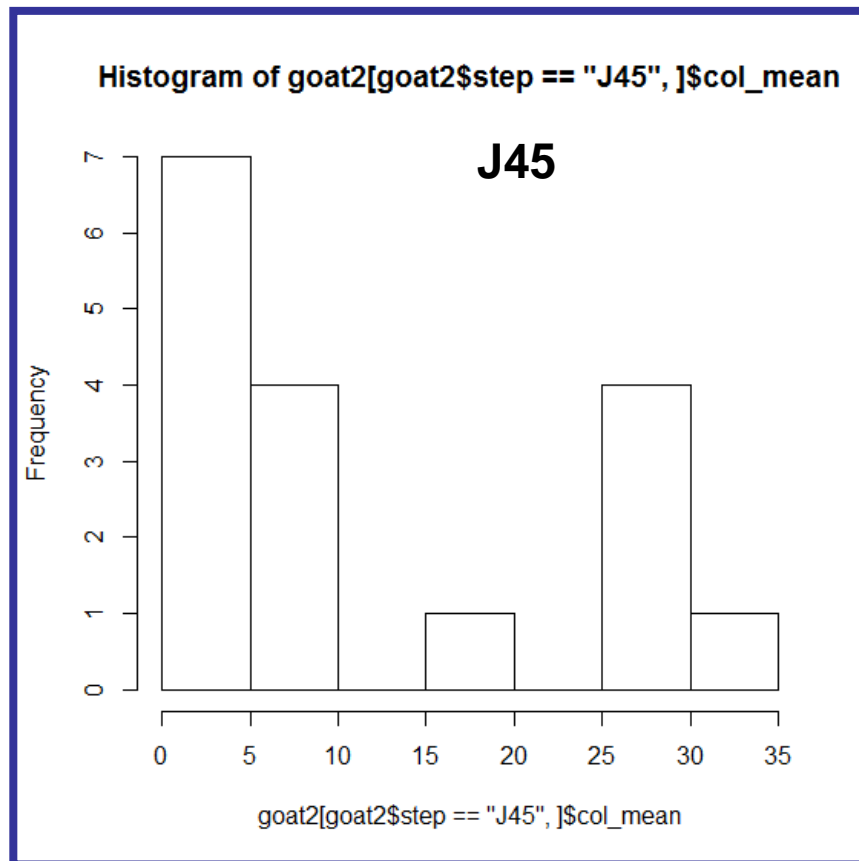
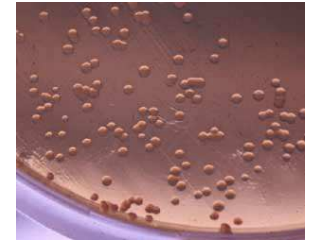
ORibex/goat=6.739,  
95% CI [1.968 ; 23.074]

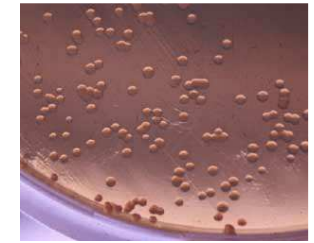
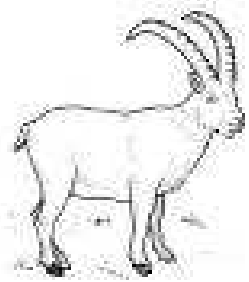


## Sphère uro-génitale & excrétion



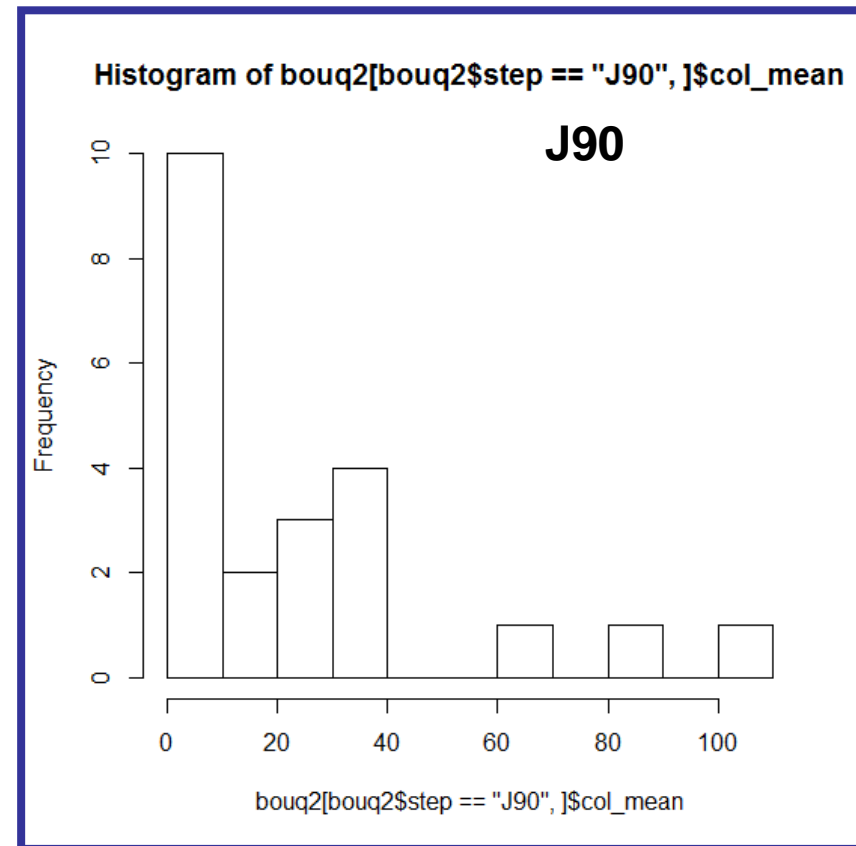
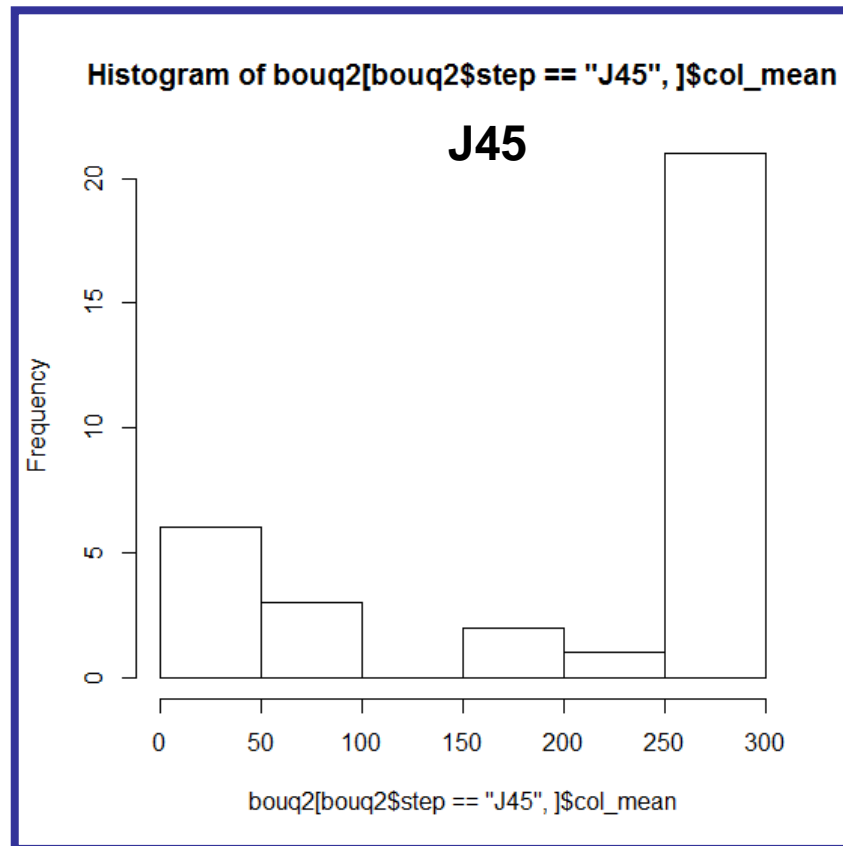
## Chèvres: charges bactériennes



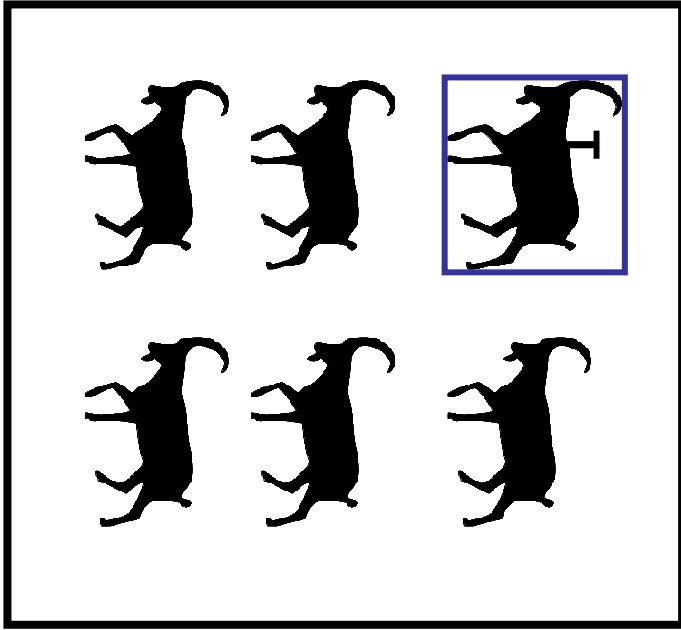


## Bouquetins: charges bactériennes

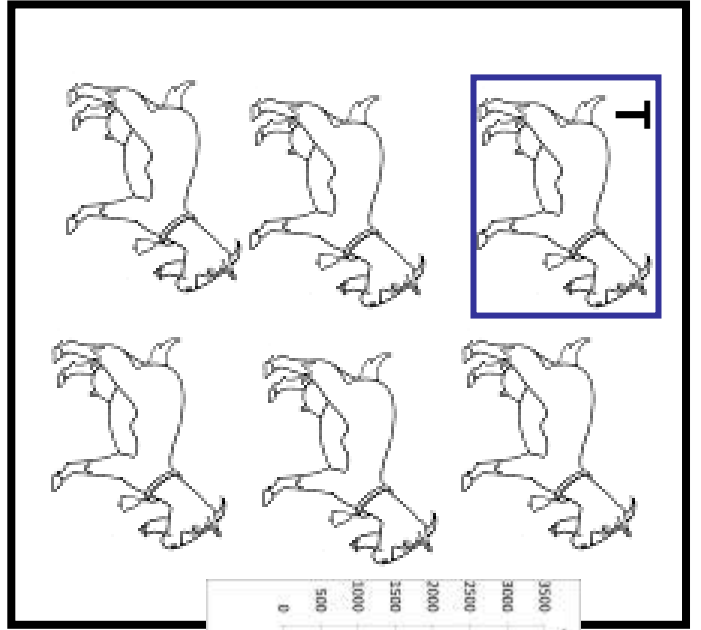
**Deltaibex/goat=+2.968, 95% CI [+1.874 ;+4.061]**



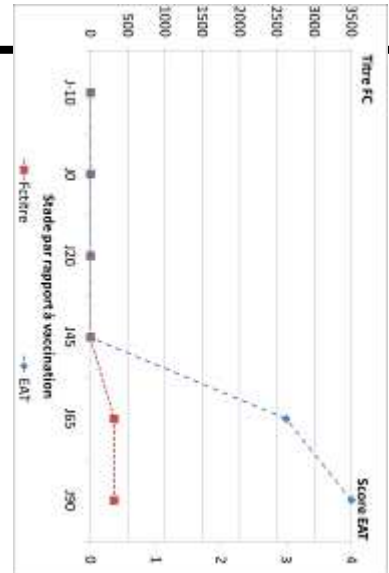
Mâles bouc domestiques



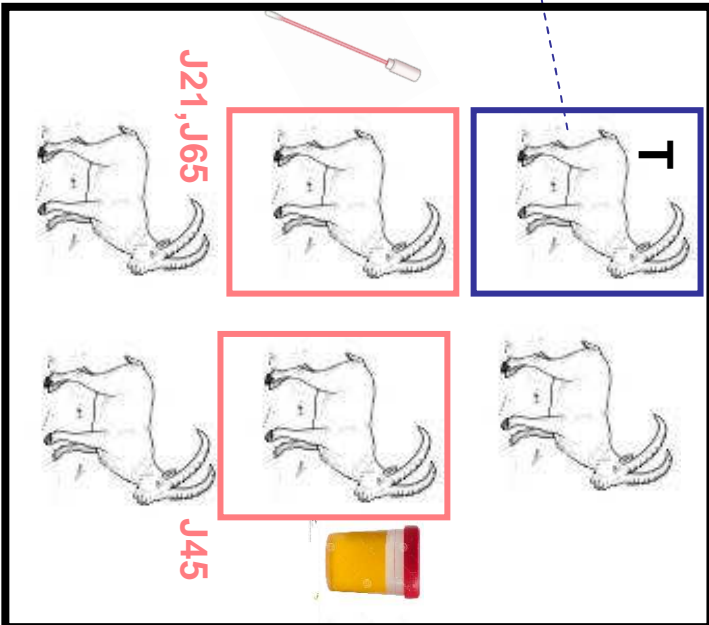
Femelles chèvres domestique



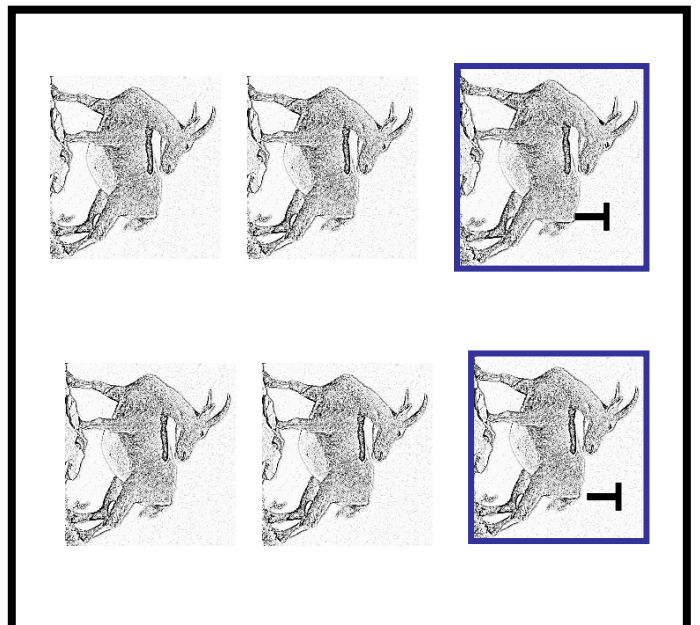
Séroconversion du mâle bouquetin témoin entre J45 et J68



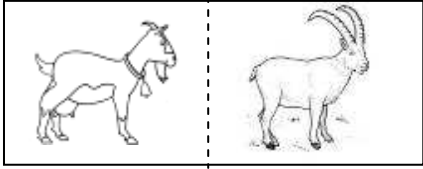
Mâles bouquetins



Femelles bouquetins







## Conclusions de l'expérimentation comparée chèvres-bouquetin

- **Tous les animaux vaccinés ont séroconverti**
  - Vaccination « réussie »
  - Séroconversion précoce et durable (titres BQ>CP)
- **Dynamique bactérienne très contrastée entre les deux espèces**
  - Envahissement, charges bactériennes BQ>>CP
  - Excrétion de la souche vaccinale: 2/5 mâles bouquetins
  - Séroconversion du mâle bouquetin T entre J45-J65 (et contamination ++)
- **Diminution de la % organes infectés & charge bactérienne entre J45 & J90 mais pas de disparition complète**

- ➔ **Innocuité de la souche Rev.1 BQ # CP**
- ➔ **Risque d'excrétion et de transmission intra-spécifique BQ>>CP**
- ➔ **Risque de séroconversion non-maitrisée**
- ➔ **Diffusion environnementale possible (# *in natura*)**

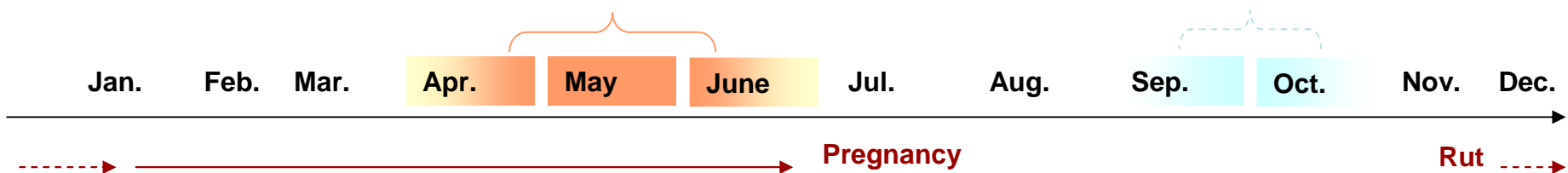


# Perspectives d'utilisation en Nature

- **En Nature (zone foyer) ?**

- **Interference avec surveillance/gestion (#DIVA)**

- **Limitation de terrain**



- 30-50/350 captures/an (10-15%)
- Gestation étagnes (excrétion-diffusion Rev.1?)

- **Perspectives**

- Pas utilisation en Nature à ce stade
- Expertise
- Modélisation (Sébastien ! )

# Suivis populationnels et épidémiologiques du bouquetin du Bargy



## → Capture-marquage-recapture (<50 animaux/an 2016-2017)

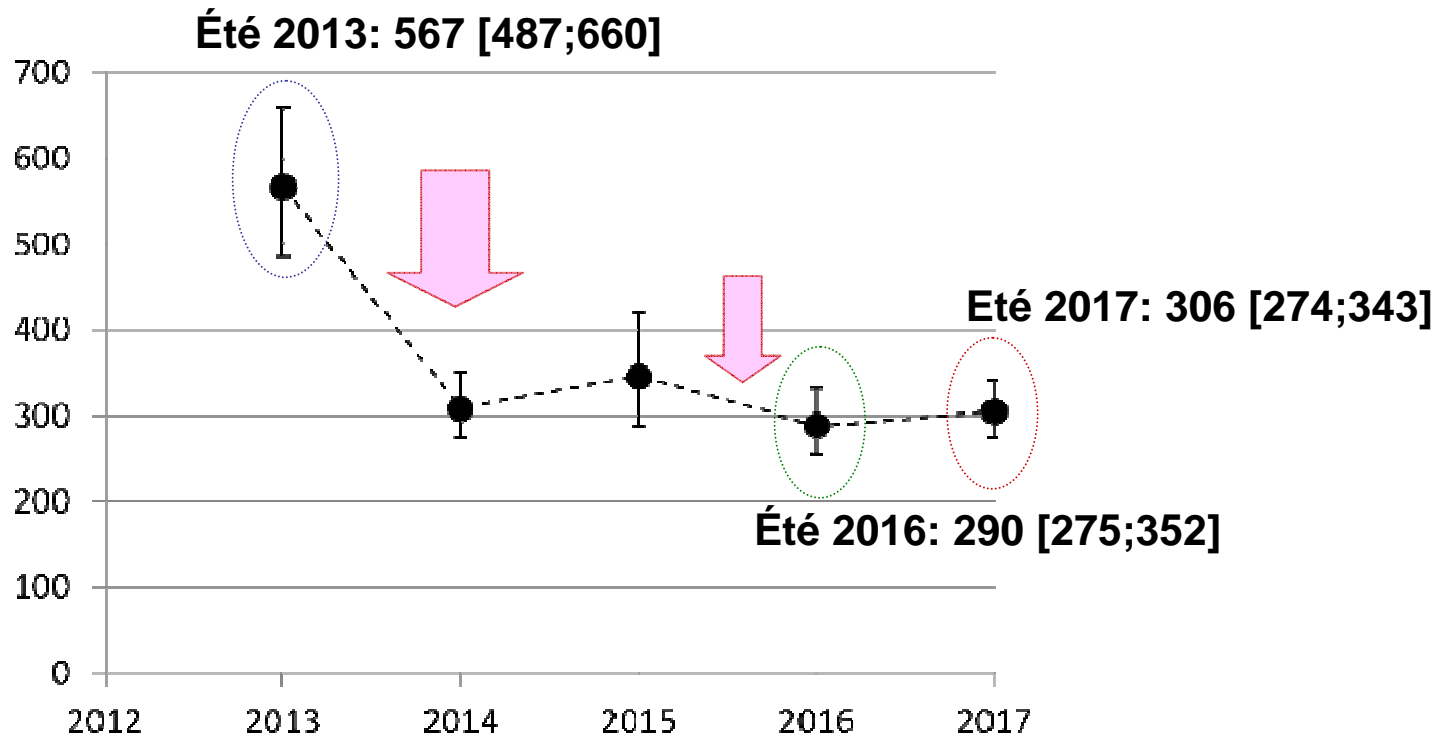
- **Comptages (IP):** Estimations d'abondance et suivi de reproduction (2013-.)
- **Suivi GPS et observations des groupes :** suivre la structure socio-spatiale, traceurs de mouvements (2013-..)
- **Suivis sérologiques & bactériologiques** (cadavres): suivre l'évolution du foyer de brucellose (2012-..)



# Estimation des effectifs de bouquetins (hors cabris)



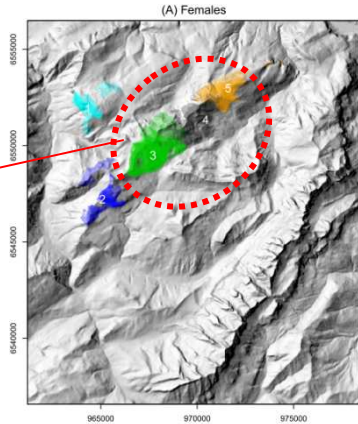
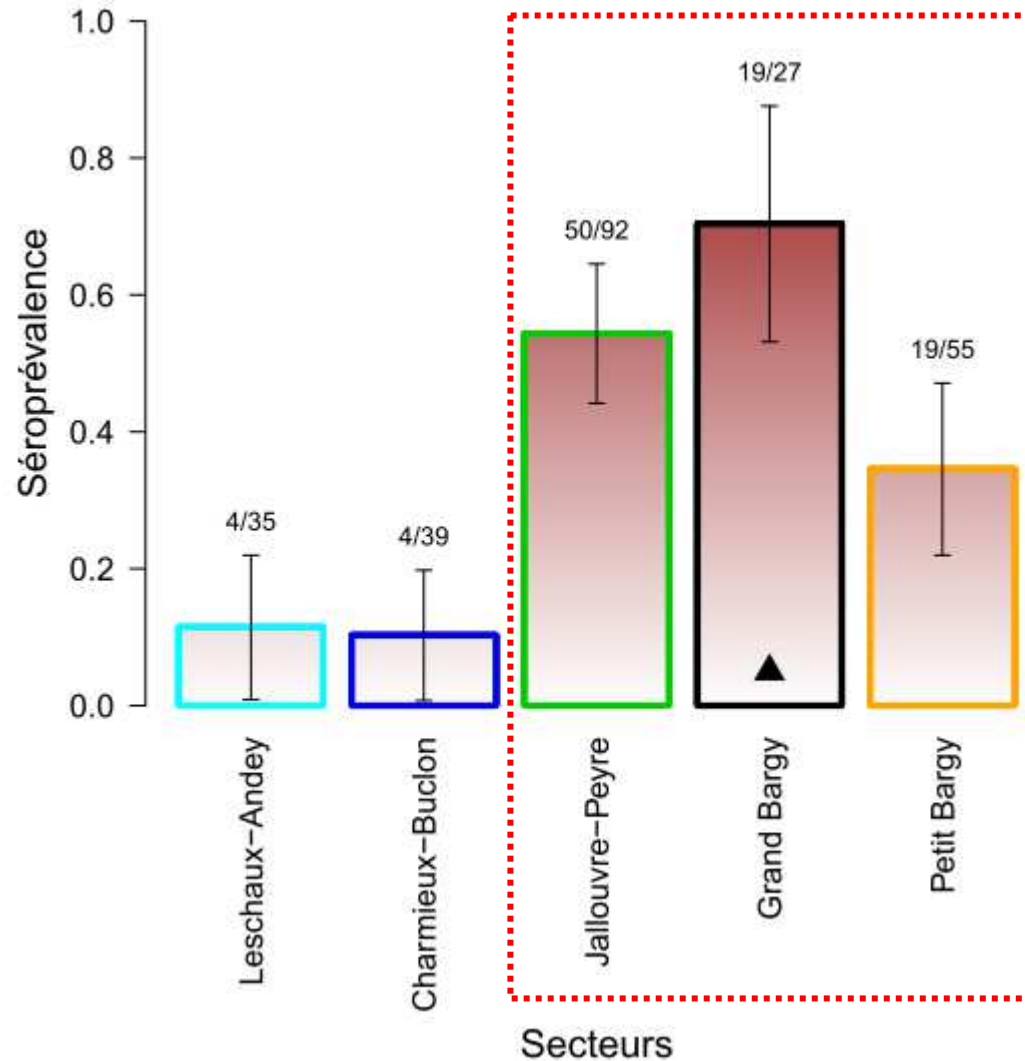
128/306 individus marqués dans le Bargy en 2017





# Structure spatiale de la prévalence (2013-2015)

Marchand et al, 2016, 2017

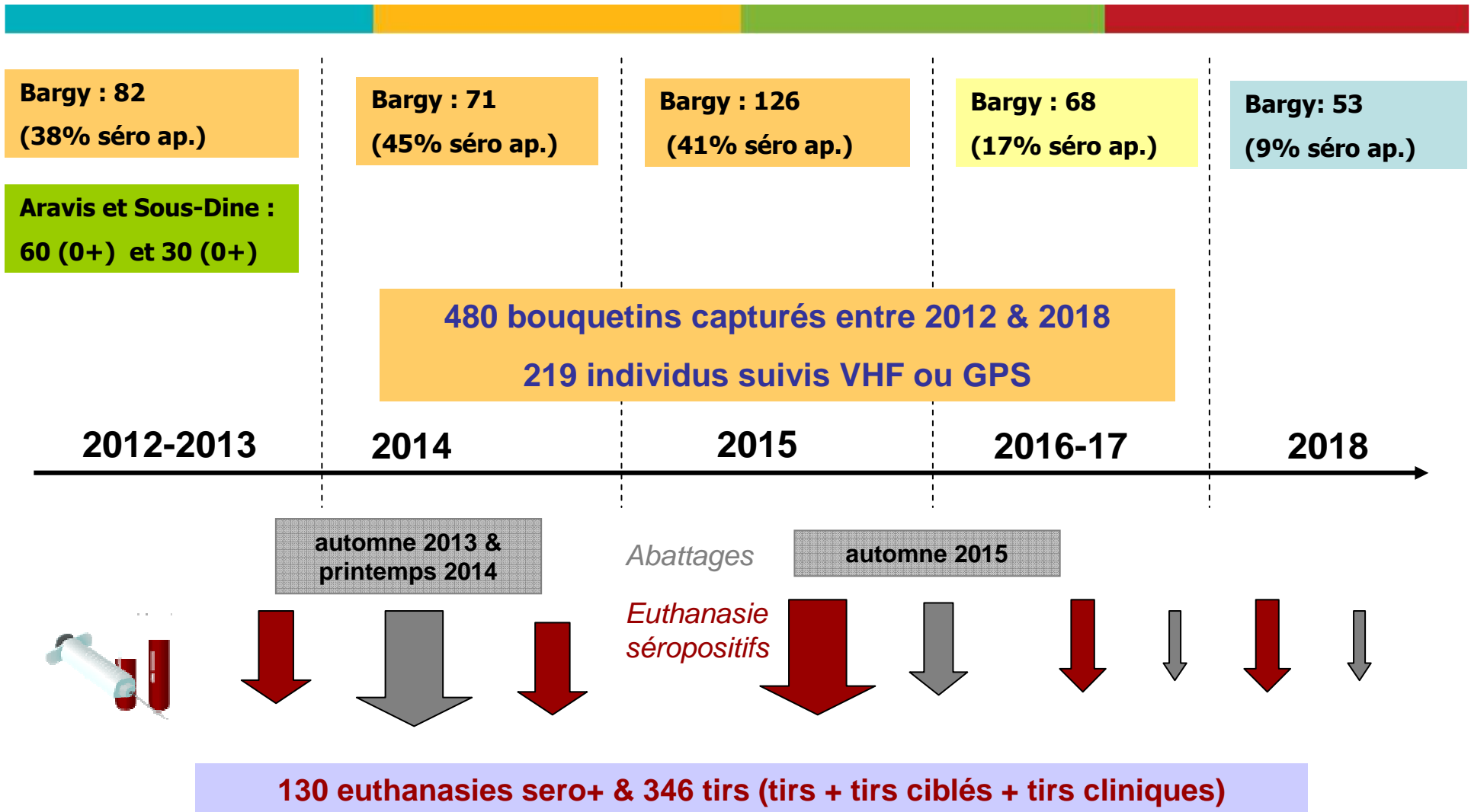


**Zone dite « cœur » où la séroprévalence est la plus élevée (zone de réservoir?)**



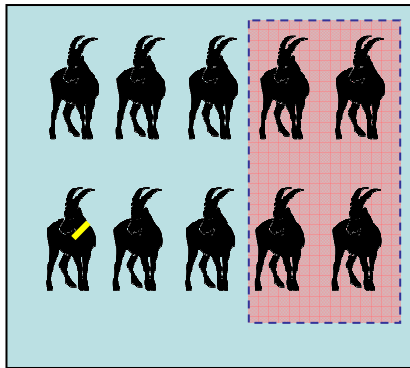
**Lien entre unités socio-spatiale**

# Effort d'échantillonnage des bouquetins



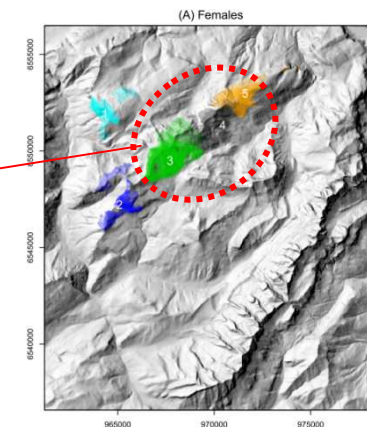
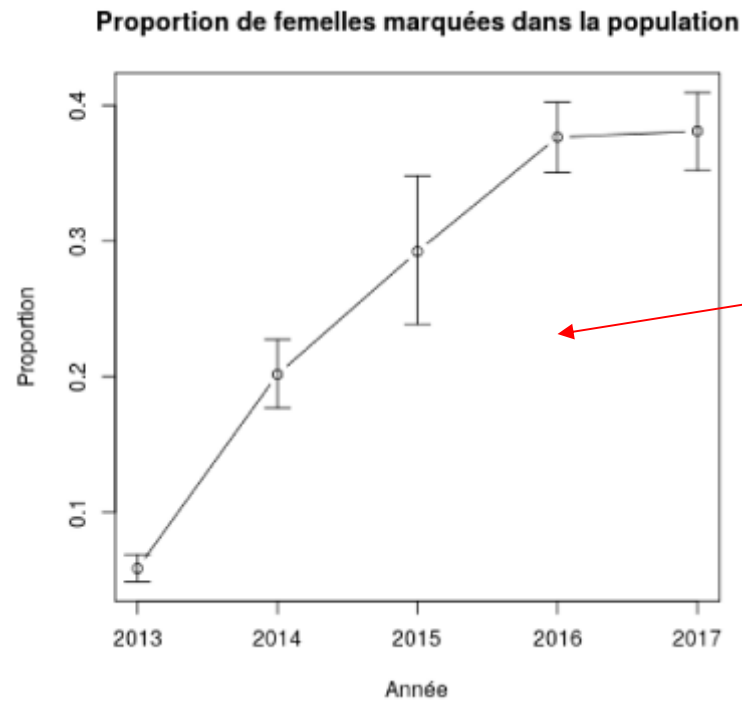
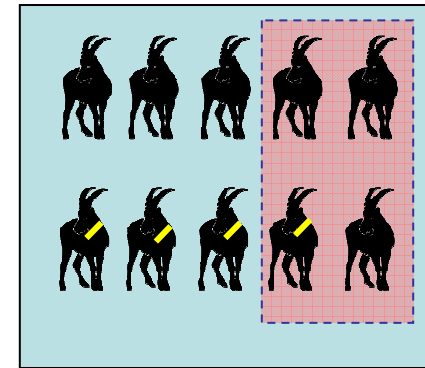
# Prévalence en zone « cœur » ?

2013



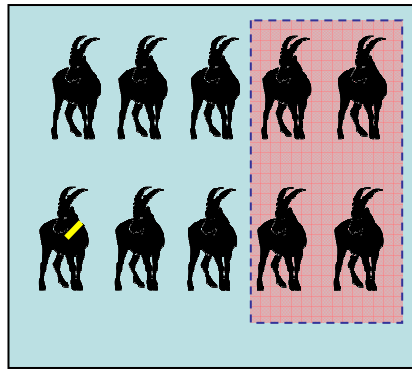
**Augmentation du taux de marquage  
au cours du temps dans la zone cœur**  
 (6%-20%-29%-38%-38%)

2016-18



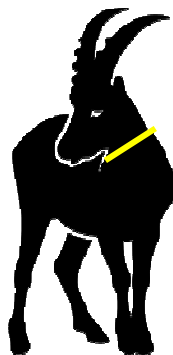
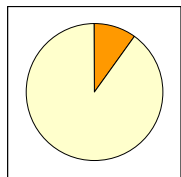
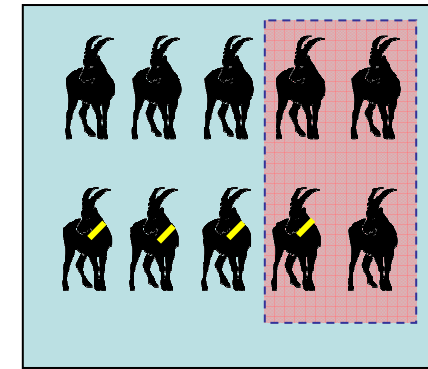
# Prévalence en zone « cœur » ?

2013

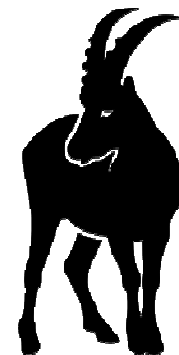
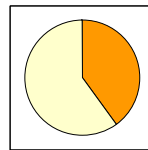


Correction biais d'échantillonnage

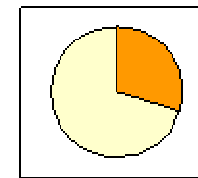
2016-18



+



=



Séroprévalence  
réelle de la  
population???

Animaux déjà marqués testés  
séronégatifs les années  
précédentes (+résistance gène  
SLC11A1)



Animaux non-marqués,  
non encore triés sur la  
base de leur statut  
sérologique





## Prévalence en zone « cœur » ?

### Saisons de capture et tir 2016-2017-2018

#### zone cœur

	sero+	total	seroprevalence	% classe
 non marqués	16	50	32.0%	* ~60%
 marqués	1	28	3.6%	* ~40 %
			sérop. corr.	20.6%

#### zone périphérique

	sero+	total	seroprevalence	% classe
 non marqués	1	26	3.8%	* ~60%
 marqués	0	5	<3%?	* ~40 %

Estimations préliminaires

# Conclusions

## Surveillance de la brucellose du bouquetin 2016-2018

**Séroprévalence en baisse en zone cœur depuis 2016 (~20% << 50%)**

**Séroprévalence a priori en baisse dans la zone périphérique (<5% << 10%)**

**Autres indicateurs en baisse (étude en cours)**

## Perspectives 2019-2020

**Continuité de la surveillance et des relevés de terrain 2019-2020**

**Cibler la zone cœur pour la surveillance et la gestion**

→ **Captures sur zone cœur et périphériques (35-50/an)**

→ **Tirs ciblés dans zone cœur sur animaux inaccessibles à la capture (20/an?)**

**Réévaluer les mesures tous les deux ans (gestion adaptative)**

**Merci pour votre attention**



Photo de Sébastien Lambert