

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

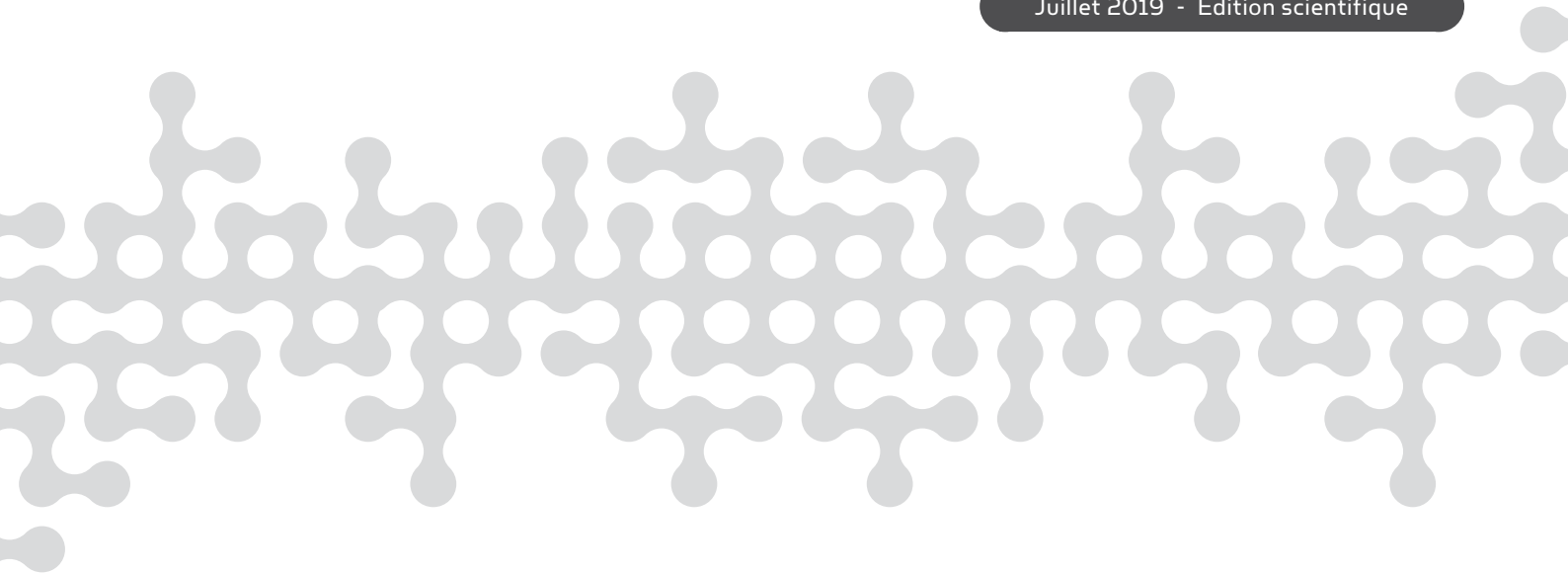
Juillet 2019 - Édition scientifique



Pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juillet 2019 - Édition scientifique



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 5 juillet 2019

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

**relatif à « l'Évaluation de la pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy
contre la brucellose »**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 22 janvier 2018 par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) et la Direction Générale de l'Aménagement, du Logement et de la Nature (DGALN) pour la réalisation de l'expertise suivante : Evaluation de la pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Suite à la découverte de deux cas humains de brucellose en France en 2012/2013, associés à la consommation en 2011, d'un fromage frais au lait cru, issu d'un élevage bovin laitier de Haute-Savoie (74) atteint de brucellose, la présence d'un réservoir sauvage de *Brucella melitensis* biovar 3 a été confirmée en 2012 dans la population de bouquetins du massif du Bargy dans les Alpes.

Cette situation a conduit à la mise en œuvre de nombreuses investigations par l'ONCFS pour caractériser ce foyer de brucellose, identifié au sein de la population des bouquetins du massif du Bargy. Elle a également donné lieu à plusieurs saisines de l'Anses, de 2013 à aujourd'hui, portant notamment sur l'évaluation des risques de transmission aux cheptels domestiques et à l'Homme, ainsi que sur l'analyse et l'évaluation de différentes options de gestion pour lutter contre cette infection.

Ces évaluations ont été menées au fil des années, en fonction des connaissances progressivement acquises sur la population de bouquetins du Bargy et sur l'évolution du foyer infectieux.

Dans le rapport d'expertise collective de l'Anses 2014-SA-0218 paru en juillet 2015, qui consistait notamment à évaluer *a priori* et comparer différents scénarios de lutte sanitaire, le collectif d'experts du groupe de travail avait estimé que la vaccination du bouquetin pourrait être

intéressante comme outil complémentaire susceptible d'améliorer l'efficacité des scénarios de base. Dans cette estimation, les experts faisaient l'hypothèse, en raison de la proximité phylogénétique entre le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*) et la chèvre domestique (*Capra hircus*), que le vaccin atténué REV1 destiné à la vaccination des ovins et caprins domestiques contre la brucellose donnerait des résultats équivalents, en termes d'innocuité et d'efficacité, à ceux observés chez la chèvre. En l'absence de donnée scientifique étayant cette hypothèse, les experts avaient néanmoins recommandé, en préalable à toute éventuelle campagne de vaccination, de vérifier *a minima* l'innocuité de ce vaccin chez le bouquetin avant son utilisation sur le terrain.

Une étude (rapport d'AST 2016-SA-0146) a été effectuée à la demande de la DGAL pour définir et évaluer bibliographiquement les critères préalables à une approche vaccinale contre la brucellose chez les bouquetins du massif du Bary. Cette étude a recommandé de conduire une expérimentation permettant la confirmation d'une innocuité équivalente du vaccin conjonctival OCUREV® chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique et l'évaluation de la capacité de diffusion de la souche dans l'environnement. Elle a abouti à la mise en place, entre octobre 2016 et juillet 2017, par un consortium ONCFS-INRA-MNH-ANSES, d'une étude expérimentale visant à comparer le niveau d'innocuité de ce vaccin conjonctival chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique, dont le rapport a été remis le 22 juillet 2017.

En parallèle, en 2017, différents scénarios de gestion ont été réévalués par l'ANSES (ANSES 2017) du fait de la mise en évidence d'une spatialisation de l'infection dans le massif du Bary, les bouquetins de la zone cœur (secteurs Grand Bary, Jallouvre-Peyre et Petit Bary) s'avérant beaucoup plus infectés que ceux des secteurs périphériques (Leschaux-Andey et Charmieux-Buclon).

La présente saisine, demandée par la DGAL et la DGALN, vise à compléter l'Avis de l'ANSES (ANSES 2017) en évaluant les bénéfices et les risques de l'apport complémentaire de la vaccination, aux scénarios de lutte contre la brucellose des bouquetins du Bary préalablement évalués, en tenant compte de l'expérimentation sur la vaccination du bouquetin citée *supra*.

Deux questions sont posées :

- « *En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ?* »
- « *Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué ?* ».

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Le traitement de la saisine relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisés « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA). L'ANSES a confié l'instruction de cette saisine à un groupe de travail *ad hoc* « Vaccin Bouquetin », rattaché au CES « SABA ».

Ces analyses et conclusions sont issues d'un travail d'expertise collégiale au sein d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Le GT Vaccin Bouquetin était constitué de sept experts qui se sont réunis les 13 juin, 29 août, 1^{er} octobre, 13 décembre 2018, 31 janvier, 27 février et 22 mars 2019.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques) les 19 février, 19 mars et 16 avril 2019. Le rapport a été présenté au CES pour validation le 14 mai 2019. Le rapport d'expertise, produit par le GT Vaccin Bouquetin, tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

La coordination de l'expertise était assurée par l'Unité d'évaluation des risques en santé, en alimentation et en bien-être des animaux (UERSABA), avec l'appui scientifique de l'Unité d'évaluation des médicaments immunologiques de l'Agence Nationale du Médicament Vétérinaire.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

L'échéance initialement fixée par les demandeurs à mai 2018 a été reportée à juin 2019, compte tenu de la nécessité de disposer de données de suivi des bouquetins, non disponibles dans les temps initialement impartis.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ET DU GT VACCIN BOUQUETIN

Le dossier de la brucellose des bouquetins du Bargy est caractérisé par une situation sans précédent, pour ce qui concerne l'espèce touchée : le bouquetin et l'ampleur de l'infection à *Brucella melitensis*, et par une disponibilité des connaissances scientifiques à la fois peu étendue et évolutive au cours du temps.

Face à ce manque de connaissances vis-à-vis de l'espèce bouquetin en matière de lutte contre la brucellose à *B. melitensis*, les experts ont néanmoins cherché à apporter des réponses, destinées à venir en appui aux décisions du gestionnaire. Ils soulignent toutefois les incertitudes incontournables, inhérentes à l'absence de connaissance scientifique ciblée sur le bouquetin dans ce domaine. En outre, le décalage dans le temps entre acquisition de données sur le Bargy et évaluation, ajoute une source d'incertitude au moment de l'expertise, qui impacte les conclusions de l'évaluation.

3.1. Objectif des mesures de lutte

Les experts rappellent que toute mesure de gestion de risque doit répondre à un objectif préalablement défini. L'objectif, affirmé dans la saisine, « d'éradication de la circulation de l'infection » ne paraît pas pertinent. Il a, en effet, déjà été souligné et argumenté, dans les avis précédents, qu'une éradication à court terme (c'est-à-dire l'obtention d'une population assainie avec certitude dans un délai de 3-5 ans) de la brucellose chez les bouquetins était inatteignable, comme cela a été mis en évidence dans d'autres espèces ou d'autres contextes (National Academies of Sciences, 2017).

Dans le contexte de l'infection brucellique des bouquetins du Bargy, l'objectif le plus réaliste est la recherche d'un contrôle (maîtrise) de l'infection dans la population des bouquetins, par la réduction de la prévalence et/ou du nombre d'animaux infectés, en vue (1) de diminuer la probabilité de contact direct et indirect des animaux domestiques avec un bouquetin infecté et (2) d'atteindre un niveau d'infection permettant d'augmenter la probabilité d'obtenir une extinction¹ naturelle de l'infection.

La gestion du risque se définit ici comme une action pérenne, donc prolongée dans le temps, destinée à réduire et/ou maintenir l'infection à bas niveau. Tous les rapports de l'Anses sur ce sujet ont rappelé cette notion de long terme et ont en outre recommandé d'adopter un principe de

¹ Le terme d'« extinction » est habituellement utilisé pour qualifier la disparition spontanée d'une maladie, contrairement à l'« éradication » qui résulte d'actions volontaires mises en place dans le cadre d'un programme de lutte (Toma et Ganière, 2013). Compte tenu du rappel ci-dessus sur le caractère jugé inatteignable de l'éradication de la brucellose dans une population d'animaux sauvages, ce terme ne sera pas utilisé dans le présent avis.

gestion adaptative, à moduler dans le temps pour tenir compte, à la fois de l'évolution des connaissances des mécanismes régissant cette infection et de l'évolution de la situation sanitaire.

3.2. Situation populationnelle et sanitaire

Les données des suivis conduits sur le terrain sur lesquelles étaient fondées le précédent avis de l'Anses en date du 14 septembre 2017 étaient celles collectées de 2012 à 2015. Le présent Avis tient compte, dans la mesure du possible, des données relatives aux mesures de gestion réalisées dans le massif, et des opérations de suivi populationnel et sanitaire de la population de bouquetins, effectuées jusqu'au printemps 2018.

3.2.1. Mesures de gestion appliquées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012

Différentes mesures de gestion ont été appliquées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012 en termes de captures associées ou non à des euthanasies et d'abattages indiscriminés (cf tableau 1 du rapport associé au présent Avis).

Les principales mesures de gestion appliquées au cours du temps comprennent :

- Des tirs sanitaires des animaux porteurs de lésions évocatrices de brucellose (2012-2013) ;
- L'euthanasie des animaux séropositifs après capture et réalisation d'un test sérologique au laboratoire et/ou *in situ*². Commencée dès 2012, cette mesure a été appliquée certaines années, associée à un effort exceptionnel de capture comme en 2015 (20 recaptures d'individus précédemment marqués + 105 individus nouveaux). Le terme utilisé dans le présent Avis pour cette mesure sera « abattage sélectif », dans le sens où il suppose une sélection préalable des animaux éliminés ;
- L'abattage massif des animaux de 5 ans et plus (opéré à l'automne 2013) ;
- L'abattage indiscriminé d'animaux (au sens où il ne suppose pas de sélection préalable des animaux et il est effectué sans distinction d'âge), comme en 2016-2017-2018, sur les zones de forte séroprévalence du centre du massif³ (appelées dans la suite « zone cœur ») ;

La population estimée fin 2017 était de 306 bouquetins hors cabris.

Fin 2018, le nombre de bouquetins éliminés dans le cadre des mesures appliquées depuis 2012 s'élevait à 464 (124 animaux séropositifs tirés ou euthanasiés ou morts en capture, 340 animaux abattus par tirs indiscriminés, ciblés, ou présentant des signes cliniques).

De 2013 à 2018, sur 383 sujets capturés dans le massif du Bargy (319 captures et 64 recaptures), 259⁴ reconnus séronégatifs (199 parmi les « primo-capturés » et 60 confirmés négatifs parmi les recapturés) ont été marqués et relâchés, dont 219 animaux équipés et suivis en VHF ou GPS.

3.2.2. Dynamique de la population des bouquetins du Bargy

Les données auxquelles les experts ont eu accès suggèrent que :

- Il n'y a pas eu de phénomène de reprise démographique après l'abattage massif de 2013 (augmentation compensatrice du taux de reproduction et donc d'accroissement de la population si elle avait été en régime de (re-)colonisation). Ce phénomène est connu

² Au début (2012-2013), les animaux étaient testés avec les méthodes normalisées classiques (EAT + FC) en laboratoire et les animaux séropositifs étaient recherchés et abattus dans un 2^{ème} temps. Un test sérologique rapide, basé sur le principe d'immunochromatographie sur bandelette [LFIA (pour Lateral Flow Immunochromatographic Assay)], effectué *in situ* est utilisé depuis 2014.

³ Zone cœur définie comme regroupant les secteurs des Petit et Grand Bargy et de Jallouvre-Peyre (cf 3.2.3)

⁴ Dont 2 animaux marqués et relâchés qui se sont avérés séropositifs au contrôle en laboratoire mais n'ont pas été retrouvés.

cependant pour se manifester après une certaine résilience (J.M. Gaillard, communication personnelle). Lors d'une précédente saisine, les experts avaient estimé que la reprise démographique dans le Bargy surviendrait entre 2 et 5 ans après l'abattage massif, mais elle ne s'est pas (ou pas encore) manifestée.

- Les indices de reproduction ces dernières années sont plutôt ceux d'une population en régime de saturation ; or dans le même temps, les mesures de l'activité hormonale ovarienne tendent à montrer une primiparité apparaissant principalement à l'âge de 3 ans, situant plutôt la population en statut intermédiaire, entre le régime de colonisation et le régime de saturation. Ce décalage d'indicateur, conjointement à la trajectoire démographique attendue de la population après avoir été réduite de moitié (reproduction compensatrice, non constatée), pourrait être interprété comme une dépression des performances de reproduction liée à un facteur autre que la densité-dépendance, en l'occurrence un éventuel impact de l'infection brucellique sur la fertilité.
- Enfin, le GT n'a pas eu connaissance de données relatives à l'impact des mesures de gestion sur le comportement reproducteur des bouquetins mâles. Quel impact les abattages pourraient avoir eu sur la proportion et la classe d'âge des individus mâles qui se reproduisent ? La transmission de la brucellose ayant une composante vénérienne, ces éléments pourraient être de nature à modifier la dynamique de transmission de l'infection dans la population. Cette question est prise en compte dans l'étude de modélisation actuellement en cours⁵, sur la dynamique de l'infection dans la population de bouquetins du massif du Bargy.

3.2.3. Evolution de la situation sanitaire

L'acquisition progressive de nouvelles données ont permis plusieurs avancées en matière de connaissance de l'épidémiologie de la brucellose chez les bouquetins du massif du Bargy.

Les principales avancées sont :

- La mise en évidence d'une structuration socio-spatiale des bouquetins femelles qui ne semble pas avoir été bouleversée par les mesures d'abattage successivement appliquées (notamment les campagnes importantes de 2013 et 2015) et qui se sont soldées par l'élimination⁶ de plus de 459 individus et le marquage de 257 animaux.

Cette structuration socio-spatiale s'accompagne d'une forte variation de la séroprévalence d'un secteur à l'autre. Ainsi, les données collectées entre 2013 et 2015 montrent que la séroprévalence est particulièrement élevée (> 50%) dans les secteurs de Jallouvre-Peyre et Grand Bargy, beaucoup plus faible dans les secteurs Leschaux-Andey et Charmieux-Buclon (environ 10%), le niveau étant intermédiaire (environ 35%) dans le secteur du Petit Bargy.

Les secteurs Jallouvre-Peyre, Grand Bargy et Petit Bargy (réunis sous la mention « zone cœur ») constituent la zone la plus infectée. Les autres secteurs sont réunis sous le vocable « zone périphérique ».

- La mise en évidence d'une distinction nécessaire entre deux sous-populations d'animaux : en effet, le marquage d'un nombre croissant d'animaux a conduit à distinguer deux sous-populations d'animaux : les bouquetins marqués (testés négatifs, marqués et relâchés) et les non marqués (jamais testés).

Du fait que les captures étaient jusqu'à présent ciblées en priorité sur les animaux non marqués, les estimations de séroprévalence portaient quasi-exclusivement sur cet échantillon de population. L'extrapolation à la population générale, incluant les animaux marqués (et quasiment pas recapturés) est devenue de moins en moins pertinente, au fur et à mesure que

⁵ Thèse d'université en partenariat entre l'Anses, l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) et VetAgro Sup

⁶ Euthanasie des séropositifs et abattages indiscriminés

le nombre d'animaux marqués augmentait dans la population, puisque ces derniers étaient sélectionnés sur leur statut séronégatif.

Ainsi, compte tenu de l'augmentation de la proportion de femelles marquées dans ces secteurs, il est devenu nécessaire de pondérer l'estimation de séroprévalence globale en prenant en compte les statuts sanitaires respectifs des individus non marqués (taille d'échantillonnage élevée) et des individus marqués (taille d'échantillonnage réduite). Des travaux de modélisation sont actuellement en cours pour estimer la séroprévalence de ces animaux non marqués, dont l'échantillonnage est trop faible pour apprécier leur statut sanitaire.

Sans pouvoir l'objectiver, les experts n'ayant pas eu accès à ces travaux en cours, il semble d'après des communications personnelles issues d'auditions de scientifiques, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués et chez les animaux non marqués et à la fois en zone cœur (avec un peu plus de 20% pour la période cumulée 2016-2017-2018) et (au moins en tendance) en zone périphérique.

Mais il n'est pas possible à ce stade de savoir si cette apparente amélioration de la situation sanitaire, notamment en zone cœur, résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante.

En effet, l'estimation de l'incidence dans cette population ne peut être obtenue que par des captures-marquages-recaptures de bouquetins en nombre suffisant (recapture d'animaux marqués), ce qui n'a pas été le cas jusqu'à aujourd'hui.

En outre, les abattages massifs de 2013 visaient les animaux de plus de 5 ans. Ceci a certainement permis de retirer des animaux séropositifs, mais les animaux jeunes séropositifs sont restés, avec pour les jeunes femelles, une probabilité supérieure d'être excrétrices que pour les femelles plus âgées (Lambert et al, 2018 a ou b).

Il est donc possible que les mesures de gestion aient entraîné une diminution de la séroprévalence, sans avoir pour autant fait diminuer de façon significative la circulation de *B. melitensis* au sein de la population restante.

La baisse de la séroprévalence, constatée par les scientifiques auditionnés, chez les bouquetins du massif du Bargy sur les années 2016-2017-2018, reste donc à confirmer sur les années à venir.

Enfin, il convient de rester prudent quant à l'évolution à long terme de la situation. En effet, la probabilité d'observer des signes de reprise de la dynamique de cette population de bouquetins (reproduction), dans les années qui viennent, n'est pas négligeable. Cette reprise entraînerait une augmentation de la proportion de femelles prenant part à la reproduction, ainsi qu'une augmentation de la proportion d'animaux naïfs et pourrait ainsi avoir pour conséquence, une augmentation de l'incidence de la maladie.

Le risque de diffusion de l'infection hors du massif existe et n'est pas estimé actuellement faute de données disponibles (pas de plan d'échantillonnage dans les massifs adjacents).

Les conséquences de l'existence de l'infection brucellique chez les bouquetins sont, en outre, négligeables en termes de risque de transmission pour d'autres espèces de la faune alpine (2 chamois reconnus infectés, l'un en 2012, l'autre en 2013), pour les ruminants domestiques (1 foyer bovin identifié en 2012) et pour les humains (aucun nouveau cas n'a été recensé depuis les 2 cas de brucellose alimentaire, liés au foyer bovin, reconnus en 2012-2013, indiquant une probabilité de survenue négligeable, même si les conséquences de ces cas de brucellose alimentaire peuvent être graves).

3.3. Vaccin OCUREV® chez le bouquetin : innocuité – efficacité

Il convient de rappeler que, dans le cadre d'un scénario de gestion de la brucellose dans le massif du Bargy, incluant la vaccination des bouquetins, le seul vaccin antibrucellique qu'il est possible de considérer aujourd'hui est la souche vivante atténuée REV.1 de *Brucella melitensis*. En effet, la seule spécialité disponible à l'heure actuelle est le vaccin conjonctival OCUREV®, contenant $1 \text{ à } 2^7 \times 10^9$ UFC par dose, disposant d'une AMM⁸ en France pour une utilisation chez les ovins et caprins, et possiblement utilisable chez les bouquetins dans le cadre du principe de la « cascade ».

L'ancien vaccin inactivé H38 utilisé chez les petits ruminants dans les années 70 en France avant d'être remplacé en 1981 par le vaccin atténué REV.1, ne dispose plus d'AMM et n'est plus produit depuis longtemps.

Enfin, la préparation d'un autovaccin à partir de la souche sauvage de *B. melitensis* infectant les bouquetins du Bargy n'est pas envisageable au vu de la réglementation actuelle.

L'unique référence à l'administration de ce vaccin OCUREV® chez le bouquetin est l'expérimentation décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart et al, 2017), dans laquelle la seule dose vaccinale testée est celle qui correspond à la dose préconisée pour les ovins et caprins.

3.3.1. Innocuité

La souche vaccinale REV.1 est une souche de *B. melitensis* biovar 1 vivante, atténuée par rapport à des souches sauvages de *B. melitensis*, mais ayant conservé un pouvoir pathogène résiduel. Cette caractéristique implique l'éventualité d'effets indésirables.

En matière d'innocuité, les résultats obtenus lors de l'expérimentation du vaccin chez le bouquetin montrent une sensibilité plus importante du bouquetin à la souche vaccinale, par rapport à la chèvre. A l'analyse de ces résultats, les experts estiment que les effets indésirables à prendre réellement en compte sont :

- le risque d'avortement, lorsque la vaccination est effectuée sur une femelle bouquetin gestante,
- l'excrétion probable de la souche vaccinale dans l'environnement, en particulier en cas d'avortement ou mise bas,
- la séroconversion des bouquetins vaccinés et des animaux contacts infectés par voie directe ou indirecte (contamination de l'environnement) à la suite de l'excrétion de la souche vaccinale par les animaux vaccinés.

En outre, un doute demeure sur le risque de persistance de la souche vaccinale et les conséquences qu'elles induisent chez le bouquetin, ce risque n'ayant pu être objectivé au-delà des 90 jours de l'expérimentation du vaccin chez le bouquetin et les données de terrain étant à ce jour limitées.

Compte tenu de cette incertitude au-delà des 90 jours d'expérimentation, l'interprétation des experts du GT sur le long terme diffère :

- Pour tous les experts sauf un, si l'expérimentation vaccinale sur le bouquetin citée ci-dessus, suggère que la souche vaccinale est susceptible de persister longtemps chez le bouquetin vacciné, il reste que cette expérience est unique dans ce domaine, et le devenir de la souche vaccinale au-delà de 90 jours post-vaccination demeure inconnu dans cette espèce.
- Pour un expert, ces éléments couplés aux données de la littérature relative à la virulence et à la pathogénicité des *Brucella* sauvages et vaccinales, permettent de conclure qu'il est

⁷ $1-2 \times 10^9$ UFC signifie que la quantité est de 10^9 UFC minimum et de 2×10^9 UFC maximum (il n'est pas possible d'avoir de quantité fixe lorsqu'il s'agit de vaccin). Les études d'innocuité doivent se faire avec la dose maximum, et les études d'efficacité avec la dose minimum.

⁸ AMM : Autorisation de mise sur le marché

hautement probable que la souche va persister longtemps chez le bouquetin vacciné, peut-être toute la vie de l'animal.

3.3.2. Efficacité

En matière d'efficacité, il convient de rappeler que l'expérimentation du vaccin avait pour objectif de contrôler l'innocuité de la souche vaccinale chez le bouquetin, mais ne visait pas à mesurer son efficacité, dans la mesure où aucune épreuve virulente n'a été mise en œuvre (les essais sur l'efficacité étant techniquement et irréalisables sur bouquetins, les mesures de biosécurité exigées étant incompatibles avec leur bien-être).

Aucune donnée d'efficacité n'est donc disponible chez le bouquetin, tant pour le niveau de protection atteint, la durée de cette protection, que pour le niveau de couverture vaccinale nécessaire.

L'absence de données disponibles chez le bouquetin limite l'expertise et conduit à ne pouvoir raisonner que par analogie, par rapport à la chèvre ou à d'autres espèces sauvages. Dans ce contexte d'incertitude, l'approche des experts du GT diffère quant aux extrapolations envisageables à partir d'autres espèces :

- Pour tous les experts sauf un, la distance phylogénétique entre l'espèce sur laquelle on souhaite employer le vaccin et l'espèce-cible de l'AMM du vaccin (i.e. la chèvre) est importante à prendre en compte dans la présente approche, visant à évaluer l'usage de ce vaccin chez les bouquetins, selon le principe de la « cascade ». A ce titre, la grande proximité phylogénétique entre chèvre et bouquetin a guidé les experts depuis 2014 dans leurs travaux relatifs à la vaccination des bouquetins, notamment pour le protocole de l'expérimentation vaccinale. Il demeure que les résultats de cette expérimentation incitent néanmoins à la prudence vis-à-vis du principe d'extrapolation. Les échecs enregistrés dans le Greater Yellowstone Area incitent également à la prudence dans l'extrapolation, même s'il s'agit d'espèces animales, de *Brucella* et de vaccins distincts par rapport à la situation du bouquetin du Bargy.
- Pour un expert, l'extrapolation à partir de la seule espèce cible de l'AMM ne paraît pas pertinente car c'est le couple espèce cible – agent pathogène qui est pertinent vu la pathogénicité et les facteurs de virulence communs à toutes les espèces de *Brucella* « smooth » et la pathologie similaire induite par les espèces de *Brucella* « smooth » chez leur(s) espèce(s) cible(s). A ce titre, il convient de constater que les bénéfices de la vaccination pour les espèces domestiques (pour les vaccins S19 et RB51) utilisés pour le couple bovin-*B. abortus* n'ont pas été confirmés chez les espèces sauvages pour les couples bison-*B. abortus* et wapiti-*B. abortus* dans le parc du Yellowstone. Dès lors, il est fondé de suivre l'absence de recommandation de la vaccination telle que formulée par les experts du Yellowstone dans leur rapport (National Academies of Sciences, 2017).

Les deux points ci-dessus, relatifs à l'innocuité et l'efficacité du vaccin, sur lesquels les avis d'experts n'ont pas unanimement convergé, ont conduit un expert à adopter une opinion divergente du collectif pour les conclusions de l'évaluation, qui figure en Annexe 1.

3.4. Scénario intégrant la vaccination

La zone cœur étant à la fois la zone la plus infectée et la plus peuplée, il est raisonnable de tenir compte de la stratégie déjà engagée, qui privilégie les actions sanitaires en zone cœur, et de recommander de limiter à cette zone l'éventualité d'une vaccination.

Deux options sont donc envisageables en zone cœur :

- La première revient à poursuivre la stratégie sanitaire déjà engagée (euthanasie sélective visant à constituer un noyau sain, y compris en recapturant des animaux marqués, associée à un abattage indiscriminé des animaux les moins accessibles) tout en mesurant les effets. Il est important en effet de confirmer si cette stratégie est suffisante pour réduire la

séroprévalence et la stabiliser à un faible niveau, compatible avec l'objectif de gestion du risque précédemment défini.

- La seconde revient à compléter la précédente par une composante médicale.

Dans cette seconde option, la vaccination doit être considérée comme un complément de la stratégie sanitaire déjà engagée, et s'adresse donc exclusivement aux bouquetins concernés par la stratégie d'euthanasie sélective, étant admis que tout bouquetin (non vacciné) séropositif doit être éliminé. Les animaux capturés et trouvés séronégatifs seraient vaccinés, avant d'être marqués spécifiquement et relâchés. Les campagnes successives conduiraient à créer un noyau d'animaux vaccinés, qui se substituerait et/ou s'ajouterait progressivement au noyau des animaux testés séronégatifs, lors des campagnes de captures antérieures, en vue d'accélérer la baisse de la prévalence de l'infection par rapport à un scénario exclusivement sanitaire.

Cependant, compte tenu de l'absence de données sur l'efficacité du vaccin chez le bouquetin, il n'est pas possible pour les experts d'estimer la probabilité d'atteindre l'objectif fixé pour l'extinction de la brucellose dans le massif du Bargy en complétant, par la vaccination des animaux séronégatifs, le scénario sanitaire précité.

Compte tenu des taux de captures permis par les moyens utilisés actuellement, la proportion d'animaux vaccinés dans la zone cœur pourrait atteindre annuellement 10-15% (sans vacciner les femelles gestantes) à 20 % (en vaccinant les gestantes). Sans connaître le niveau de couverture vaccinale nécessaire pour cette population de bouquetins, ces chiffres conduiraient néanmoins à devoir envisager des opérations de vaccination sur plusieurs années et en faisant appel à d'autres modalités de captures (alternatives pour animaux méfiants, augmentation du nombre d'animaux capturés, ...).

A ce titre, les travaux en cours sur la modélisation de la brucellose dans la population de bouquetins du Bargy, intégrant les données de spatialisation de l'infection, pourraient apporter des éléments utiles sur le plan opérationnel.

3.5. Conclusions et recommandations

3.5.1. Evaluation des bénéfices et des risques de la vaccination dans le scénario de gestion de la brucellose des bouquetins du massif du Bargy

L'évaluation bénéfices/risques menée dans le cadre de cette expertise vise à analyser les bénéfices et les risques apportés par l'ajout de la vaccination, dans le scénario explicité au paragraphe précédent (§3.4), par rapport à une gestion purement sanitaire.

Le dossier de la brucellose des bouquetins du Bargy est caractérisé par une situation sans précédent, pour ce qui concerne l'espèce bouquetin et l'infection à *Brucella melitensis*, et par une disponibilité des connaissances scientifiques à la fois peu étendue et évolutive au cours du temps.

Face au manque de connaissances vis-à-vis de l'espèce bouquetin en matière de lutte contre la brucellose à *B. melitensis*, les experts ont néanmoins cherché à apporter des réponses, destinées à venir en appui aux décisions du gestionnaire, mais ils soulignent les incertitudes incontournables, inhérentes à l'absence de documentation ciblée sur le bouquetin. L'ensemble de ces incertitudes est rappelé en annexe 6 du rapport associé au présent Avis.

Ces incertitudes ont notamment conduit les experts, en l'absence de données scientifiques sur le bouquetin, à exprimer leur « avis d'expert ». Celui-ci s'est avéré, sur certains points, non totalement convergent, à la fois sur l'innocuité et sur l'efficacité du vaccin.

De ce fait, un expert a souhaité exprimer des réponses aux questions de la saisine, différentes du reste du collectif. Celles-ci sont reprises intégralement en Annexe 1.

En ce qui concerne les risques liés au scénario avec vaccination, il convient de souligner que cette évaluation se place dans le contexte d'une infection de la population des bouquetins par une

souche sauvage de *B. melitensis*, avec l'objectif d'en obtenir l'extinction, pour des raisons sanitaires réglementaires (conserver le statut indemne de la France en prouvant la maîtrise de la situation épidémiologique, de manière à assurer la non propagation de l'infection vers des troupeaux d'animaux de rente) et de santé publique. Ainsi la notion de risque, pour les bouquetins, lié à leur vaccination, ne s'apprécie pas forcément de la même manière, selon que l'on prend en compte, ou non, cet objectif en priorité.

Par ailleurs, dans le cadre de l'analyse de risque, et dans ce contexte sanitaire caractérisé notamment par une séroprévalence élevée (estimée encore à 20%) en zone cœur, le niveau de risque acceptable⁹, auquel va être comparé le risque estimé, lié à la vaccination des bouquetins, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'amélioration de la situation sanitaire chez les bouquetins.

Ces deux éléments sont à prendre en compte dans une évaluation des bénéfices et des risques.

Néanmoins, compte tenu de la persistance des anticorps vaccinaux et de l'excrétion dans l'environnement de la souche vaccinale, les experts ont souligné que la mise en place d'une vaccination aurait un impact négatif important sur la surveillance sanitaire et la gestion du foyer dans la population de bouquetins, dans le contexte des modalités de capture actuellement pratiquées sur le massif du Bargy. En effet, il n'existe pas, à ce jour, de technique sérologique réalisable au chevet de l'animal, permettant de distinguer les animaux infectés par la souche sauvage des animaux vaccinés par la souche REV.1.

Même si les occasions de contacts interspécifiques sont plus rares qu'en intra spécifique, et que la probabilité d'un passage d'une souche vaccinale, d'une espèce animale à une autre, est en deçà de celle d'un passage d'une souche sauvage, une séroconversion chez un ruminant domestique pourrait interférer avec le dépistage de la brucellose dans les cheptels, nécessitant de contrôler l'origine de cette séroconversion, avec un abattage diagnostique.

En ce qui concerne l'efficacité, il a été précisé ci-dessus qu'il n'existait pas de données disponibles pour le bouquetin.

3.5.2. Conclusions

Les risques et bénéfices, découlant de l'ajout au scénario sanitaire d'une disposition de vaccination, exposés dans le présent avis et dans le rapport d'expertise collective associé, conduisent les experts à considérer que le recours à l'outil vaccinal OCUREV® à raison de 1-2 10⁹ UFC/dose, administré par instillation conjonctivale ne peut être recommandé en l'état actuel des connaissances.

En outre, les experts soulignent le caractère indispensable du maintien de la surveillance des bouquetins dans le massif (zone cœur et zone périphérique), afin de suivre l'évolution de la situation sanitaire : confirmer la tendance à l'amélioration décrite au groupe d'experts durant les travaux, mais également vérifier, au cours des années à venir, si cette tendance est durable et ne s'inverse pas (du fait d'une augmentation de la dynamique de population, si elle devait avoir un impact sur l'évolution de la séroprévalence de la brucellose, dans le sens d'une augmentation).

Il convient également de noter que, si la séroprévalence a atteint dans la population de bouquetins de la zone cœur un niveau de 20% en 2018 (selon les scientifiques auditionnés), après avoir été à plus de 40% six ans plus tôt, ce taux de séroprévalence reste encore relativement élevé et des mesures de gestion dans la population de bouquetins doivent être maintenues pour faire passer la séroprévalence bien en-dessous de 20%.

⁹ L'évaluation de risque est une étape de la gestion du risque qui consiste à comparer un risque estimé (par l'expertise) à un niveau de risque acceptable (fixé par le gestionnaire). On entend par risque acceptable, le niveau de risque jugé compatible avec la santé, compte tenu d'un ensemble de données épidémiologiques, sociales et économiques. (Afssa, 2008)

Si l'amélioration ne se confirmait pas au cours des années à venir, la question de l'analyse des bénéfices et des risques du scénario associant mesures sanitaires et vaccination des bouquetins pourrait éventuellement se poser à nouveau. Cette nouvelle analyse pourrait bénéficier sur le plan opérationnel de l'apport du modèle, en cours d'élaboration.

Les incertitudes concernant l'efficacité du vaccin OCUREV® chez le bouquetin et la dose pertinente pour cette espèce resteraient toutefois les mêmes et ont peu de chances d'être levées chez un animal sauvage comme le bouquetin. En outre, aucune alternative vaccinale n'existe aujourd'hui. De même, les inconvénients présentés par ce vaccin, et notamment les interactions avec la surveillance des bouquetins et des ruminants domestiques perdureront.

Les experts rappellent que dans le cadre de l'analyse de risque, le niveau de risque acceptable, auquel va être comparé le risque estimé lié à la vaccination, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'évolution de la situation sanitaire chez les bouquetins. Ainsi, le scénario associant vaccination et mesures sanitaires devrait ne présenter un rapport bénéfice/risque défavorable (ou favorable) que pour une période transitoire, en fonction de l'évolution de l'infection dans la population.

3.5.3. Recommandations

Les experts pointent l'incertitude qui subsiste sur la situation des massifs voisins du Bargy vis-à-vis de la brucellose. La surveillance de ces massifs (tel que celui des Aravis) est recommandée.

Par ailleurs, les experts soulignent que cette évaluation du rapport bénéfices/risques de l'inclusion de la vaccination des bouquetins dans les scénarios de gestion, repose dans le présent rapport sur des éléments essentiellement scientifiques (lorsqu'ils existent), en association avec certaines considérations techniques, notamment en matière de faisabilité des scénarios de gestion.

Les experts n'ont pas pris en compte d'autres considérations, relevant davantage de la responsabilité du gestionnaire. Ainsi, différents points n'ont pas été évalués dans le rapport :

- L'effet que pourrait avoir la vaccination sur la motivation de différents acteurs : agents de terrain, observateurs, associations ... ainsi que sur l'amélioration de l'acceptabilité des stratégies de gestion incluant cette vaccination.
- La prise en compte du risque humain en termes d'accidents, lors des captures et manipulations des bouquetins, compte tenu du caractère très escarpé du théâtre des opérations, et des risques pour le manipulateur d'inoculation accidentelle du vaccin, même si ceux-ci peuvent être maîtrisés par le port d'EPI adaptés (gants et masque oculaire).
- S'il décidait d'avoir recours au vaccin, le gestionnaire serait amené à adopter un protocole vaccinal par analogie avec les animaux domestiques, sans que la probabilité de succès ne puisse être estimée, conduisant à de potentiels réajustements au fil des années. Les autorités de gestion pourraient, dans ce cadre, s'appuyer sur l'avancée des travaux de terrain animés par l'ONCFS et les progrès des travaux de modélisation actuellement menés dans le cadre d'un doctorat d'université. Le succès de ce scénario serait évalué de façon itérative, en fonction des résultats obtenus au fil des années.

Ce recours à la vaccination revêtirait en tout état de cause un caractère expérimental, dans la mesure où il n'existe pas de précédent dans cette population. Le scénario devrait être mis en œuvre selon un protocole expérimental contrôlé, de telle sorte que des données valides puissent être collectées et analysées, avant d'étendre la vaccination ou de l'arrêter selon les résultats de cet essai. Une perspective d'une dizaine d'années semble raisonnable pour tirer des conclusions d'un tel scénario.

Il relève de la décision du gestionnaire d'intégrer ce type de considérations dans l'évaluation de la balance bénéfices/risques.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES SABA et du Groupe de Travail « Vaccin Bouquetin ».

L'Anses souligne en premier lieu l'importance d'associer toute mesure de gestion de risque à un objectif préalablement défini. L'objectif, énoncé dans la saisine, « d'éradication de la circulation de l'infection » ne paraît pas pertinent. Il a en effet déjà été souligné et argumenté, dans les avis précédents, qu'une éradication à court terme (c'est-à-dire l'obtention d'une population *assainie avec certitude* dans un délai de 3-5 ans) de la brucellose chez les bouquetins n'apparaît pas atteignable. Dans le contexte de l'infection brucellique des bouquetins du Bargy, l'objectif le plus réaliste est l'atteinte d'une situation de maîtrise de l'infection dans la population des bouquetins, caractérisée par la réduction de la prévalence et/ou du nombre d'animaux infectés, en vue de maîtriser la situation épidémiologique, de manière à assurer la non propagation de l'infection vers des troupeaux d'animaux de rente.

De plus, les avis successifs de l'Anses sur ce sujet ont rappelé la notion de long terme attachée à la gestion de cette situation et ont en outre recommandé d'adopter, pour cette raison, un principe de gestion adaptative.

C'est dans cette perspective de gestion adaptative et compte tenu de l'état actuel des connaissances scientifiques et de la situation du foyer de brucellose, que les experts n'ont pas recommandé l'inclusion de la vaccination dans le scénario de référence.

De plus, après le traitement de neuf saisines sur la brucellose des bouquetins du massif du Bargy, l'Anses estime que l'expertise a épuisé les ressources d'évaluation qualitative des risques et des options de gestion.

L'agence rappelle qu'un modèle d'évolution de la brucellose des bouquetins dans le massif du Bargy a été produit par ses équipes au cours de l'expertise de 2014-SA-0218 (Anses 2015) et qu'il fait actuellement l'objet de travaux complémentaires dans le cadre d'une thèse d'université en partenariat entre l'Anses, l'ONCFS et VetAgro Sup. Ces travaux permettront de simuler différentes options de gestion visant à élaborer des éléments quantitatifs pour l'évaluation.

Si les éléments qui ont servi à paramétrer le modèle peuvent, dans certains cas, reposer sur des hypothèses (correspondant à certaines incertitudes soulevées dans les avis de l'Anses), seul ce modèle permettra au gestionnaire d'aller plus loin dans sa réflexion, de disposer d'une simulation de l'évolution de la situation sanitaire et de tester certaines mesures de gestion sur un plan plus opérationnel et par là même, de tester la robustesse de ce modèle lorsqu'il sera disponible.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Bouquetin, brucellose, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, cheptel domestique, évaluation de risque, Haute-Savoie, massif du Bargy, vaccin Rev.1, vaccination.

Alpine ibex, brucellosis, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, domestic livestock, risk assessment, Bargy massif, Rev.1 vaccine, vaccination.

ANNEXE 1 : PRESENTATION DES POSITIONS DIVERGENTES DE M. JACQUES GODFROID POUR LA REPONSE AUX QUESTIONS DE LA SAISINE.

Question 1 : En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ?

Réponse 1 : « *L'étude expérimentale ne permet pas de répondre à cette question car elle a été mise en œuvre afin de vérifier l'innocuité de Rev.1 chez le bouquetin. L'étude suggère que chez le bouquetin, la souche vaccinale Rev.1 persiste plus longtemps à des niveaux bactériologiques (CFUs) plus élevés que chez la chèvre (Higgins et al. 2017). Les réponses immunitaires chez le bouquetin ne permettent pas le contrôle de la souche vaccinale comme chez la chèvre. Une étude d'efficacité vaccinale n'étant pas envisageable, il y a lieu de faire référence à d'autres travaux sur l'infection brucellique et sur l'évaluation des vaccins anti-brucelliques dans la faune sauvage. Dans ce cadre le document « Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area (GYA) » édité par la « National Academy of Science, USA » est la référence scientifique la plus récente et la plus complète. Ce rapport porte sur l'infection à *Brucella abortus* chez le cerf wapiti (*Cervus canadensis*) et le bison (*Bison bison*) et la maîtrise du risque de transmission de *B. abortus* aux troupeaux de bovins, indemnes de brucellose pâturant à proximité ou partageant les mêmes pâtures que les cerfs et les bisons.*

*Lors des réunions du GT, il a été objecté que le cerf et le bison sont génétiquement moins proches du bouquetin que la chèvre, rendant la comparaison bison-cerf/bouquetin moins valide que la comparaison chèvre/bouquetin. De plus, il a été objecté qu'il s'agit chez le cerf et le bison d'infections à *B. abortus*. Ceci ne sont selon moi, pas des arguments scientifiquement valables pour la raison suivante : la pertinence de la comparaison cerf-bison/*B. abortus* et bouquetin/*B. melitensis* est à trouver dans l'identification des facteurs de virulence communs à toutes les espèces de *Brucella* « smooth » pathogènes, à la pathogénicité similaire de toutes les *Brucella* « smooth » pathogènes, ainsi qu'à la pathologie induite pour leur(s) espèce(s) préférentielle(s) (Byndloss et al. 2016).*

*Les experts ayant rédigé le rapport GYA recommandent de ne plus parler d'éradication car ceci est un objectif irréaliste que ce soit en développant un scénario incluant la vaccination ou non. Ils prônent une gestion adaptative permettant le contrôle de l'infection chez la faune sauvage, dont le but principal est d'éviter la transmission aux bovins trouvant depuis une vingtaine d'années son origine dans la population de cerfs infectés plutôt que les bisons infectés. Le focus du rapport est donc mis sur l'infection à *B. abortus* du cerf. Les auteurs de ce rapport sont arrivés à la conclusion qu'ils ne pouvaient pas recommander la vaccination du cerf (avec le vaccin « bovin » S19), car après plus de 40 ans d'expérimentation in natura, aucune baisse de la prévalence de l'infection n'a pu être démontrée suite à la vaccination¹⁰ (Maichak et al. 2017).*

Par ailleurs, il est utile de rappeler qu'aucun vaccin anti-brucellique pour la faune sauvage n'existe à l'heure actuelle ».

¹⁰ Dans le document GYA, la publication centrale relative à l'efficacité du vaccin S19 chez le cerf à laquelle il est fait référence, est celle de Maichak et al. 2017. En parcourant le document GYA, vous verrez des citations "Maichack et al. 2017" aux pages 69, 71, 89, 106, 138 et 170. En particulier :

- p.69: "Overall, S19 vaccination is considered to be inadequate for generating protective immunity in elk in the GYA."

- p.138: "Vaccination has long been viewed as the holy grail of elk brucellosis management, but an effective vaccine for elk does not yet exist and may not exist for some time..."

- p.170: "The conclusion that S19 vaccination is of marginal value in reducing seroprevalence in feedground elk..."

Dans la section "Overall findings, Conclusions and Recommendations", pour chaque mesure de management, la structure du document GYA est:

1. Conclusions, sur base des données de la littérature

2. Recommandations, sur base de l'analyse des données de la littérature

Pour la vaccination (p.178), le comité n'a pas fait de recommandation

Question 2 : Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué?

Réponse 2 : « Comme dûment documenté dans le rapport, les risques d'innocuité de Rev.1 pour l'homme, lors d'une utilisation éventuelle chez le bouquetin, sont comparables aux risques liés à la vaccination et aux manipulations d'animaux domestiques vaccinés.

Pour les ruminants domestiques, les risques sont minimes. Pour la faune sauvage, un risque existe vu le degré d'incertitude important. L'essai de vaccination expérimentale du bouquetin documente une pathogénicité résiduelle de Rev.1 plus importante chez le bouquetin que chez la chèvre. Il est spéculatif de préjuger de la pathogénicité résiduelle de Rev.1 chez les autres espèces sauvages, et partant de sa transmission et de son excrétion dans le milieu. Cependant, la persistance de Rev.1 dans le milieu sera a maxima comparable à la persistance de B. melitensis dans le milieu extérieur.

La vaccination comme outil de contrôle de la brucellose pour les animaux domestiques et pour la faune sauvage devra être utilisée en complément d'autres outils de gestion, pendant des temps longs. Il est utile de rappeler que plusieurs décennies de vaccination ont été nécessaires afin d'éradiquer la brucellose des petits ruminants en France et que plus de 40 ans de vaccination du cerf avec le vaccin S19 (ayant montré une efficacité en infection expérimentale chez le cerf contre B. abortus) n'a pas permis de diminuer la prévalence de l'infection chez le cerf dans le GYA.

Par ailleurs, ce rapport indique qu'il est trop tôt pour pouvoir juger si les actions sanitaires entreprises depuis 2013 ont pu baisser de façon significative la prévalence de la brucellose chez le bouquetin, bien qu'une tendance en ce sens existe. De plus, le nombre de campagnes de vaccination nécessaires pour atteindre un objectif de contrôle chez le bouquetin n'a pas été analysé par le GT et n'est pas mentionné dans le rapport.

Dès lors une analyse coût/bénéfice de la vaccination n'est pas possible à l'heure actuelle et toute vaccination entraînant une montée en anticorps post-vaccinaux, compromettrait toute analyse de l'efficacité (baisse de la prévalence telle que mesurée par la détection d'anticorps) des mesures prises jusqu'à ce jour.

Les réponses aux questions 1 et 2 supra conduisent à considérer que le recours à l'outil vaccinal (OCUREV® à raison de 1-2 109 UFC/dose, administré par instillation conjonctivale, dans la situation actuelle de l'infection dans la population de bouquetins), ne peut être recommandé.

Références bibliographiques :

- Byndloss M.X., Tsois R.M. *Brucella* spp. 2016. Virulence Factors and Immunity. Annu Rev Anim Biosci. 4:111-27. doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111326.
- Higgins J.L., Gonzalez-Juarrero M., Bowen R.A. 2017. Evaluation of shedding, tissue burdens, and humoral immune response in goats after experimental challenge with the virulent *Brucella melitensis* strain 16M and the reduced virulence vaccine strain Rev.1. PLoS One. Oct 13;12(10):e0185823. doi: 10.1371/journal.pone.0185823. eCollection 2017.
- Maichak, E.J., B.M. Scurlock, P.C. Cross, J.D. Rogerson, W.H. Edwards, B. Wise, S.G. Smith, and T.J. Kreeger. 2017. Assessment of a strain 19 brucellosis vaccination program in elk. Wildlife Society Bulletin 41:70-79
- National Academies of sciences, engineering and medicine, 2017 – Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area. The National Academies Press. 209 pages.

Evaluation de la pertinence de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose

**Saisine 2018-SA-0017
Saisine liée 2016-SA-0229**

RAPPORT d'expertise collective

CES Santé et Bien-être des Animaux

GT Vaccin Bouquetins

Mai 2019

Mots clés

Bouquetin, brucellose, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, cheptel domestique, évaluation de risque, Haute-Savoie, massif du Bargy, vaccin Rev.1, vaccination.

Alpine ibex, brucellosis, *Brucella melitensis*, *Capra ibex*, domestic livestock, risk assessment, Bargy massif, Rev.1 vaccine, vaccination.

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

M. Jean-Pierre GANIERE - Retraité, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes (Infectiologie, maladies réglementées, évaluation de risque).

Membres

Mme Suzanne BASTIAN – Maître de conférence ONIRIS - Ecole Vétérinaire de Nantes (épidémiologie, interface animaux domestiques-écosystèmes)

Mme Barbara DUFOUR - Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (maladies réglementées, zoonoses, épidémiologie, évaluation de risques)

M. Dominique GAUTHIER – Directeur du Laboratoire Départemental 05 (faune sauvage de montagne, interface faune sauvage-animaux domestiques, méthodes de diagnostic).

M. Jacques GODFROID – Professeur, Université Arctique de Norvège (zoonoses, brucellose, faune sauvage)

M. Jean GUILLOTIN – Directeur du Laboratoire Départemental 59 (méthodes de diagnostic, évaluation de risques, faune sauvage)

Mme Elsa JOURDAIN - Chargée de recherche, INRA Clermont-Ferrand - Theix (zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques)

RAPPORTEURS

Mme Carole TOÏGO – Ingénieur-expert, Equipe Ongulés de montagne, ONCFS (dynamique des populations, biologie du bouquetin)

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- Nom CES SABA – Dates : 6 février, 8 mars 2018, 19 février, 19 mars, 16 avril, 14 mai 2019.

Président

M. Gilles MEYER – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants.

Membres

Mme Catherine BELLOC – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, approche intégrée de la santé animale, maladies des monogastriques.

M. Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccination, maladies des lagomorphes.

M. Alain BOISSY – Directeur de Recherche INRA Clermont-Ferrand – Theix - Bien-être animal

- M. Henri-Jean BOULOUIS – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie
- M. Eric COLLIN – Vétérinaire libéral - médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies vectorielles, maladies à prion, épidémiologie, maladies des ruminants.
- M. Jean-Claude DESFONTIS – Professeur Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Physiologie animale, bien-être animal, médicament vétérinaire
- Mme Maria-Eleni FILIPPITZI – Vétérinaire épidémiologiste, SCIENSANO (B) – épidémiologie quantitative, évaluation de risque.
- M. David FRETIN – Chef du service zoonoses bactériennes des animaux de rente. SCIENSANO (B) - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire
- Mme Emmanuelle GILOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques, maladies réglementées.
- M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRA Toulouse – Bactériologie, antibiorésistance, maladies des poissons.
- M. Lionel GRISOT – Vétérinaire libéral - Médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies des ruminants.
- Mme Nadia HADDAD – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Infectiologie, maladies réglementées, zoonoses.
- Mme Viviane HENAUX – Chargée d'activités de recherche, Anses Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque.
- Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRA Clermont-Ferrand - Theix - Zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques.
- Mme Sophie LE BOUQUIN – LE NEVEU – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Epidémiologie, Santé et Bien-Etre, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Epidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée de la santé animale
- Mme Sophie LE PODER – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - virologie, immunologie, vaccinologie
- Mme Elodie MONCHATRE-LEROY – Directrice du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage, Anses Nancy - Virologie, épidémiologie, évaluation de risques, faune sauvage
- Mme Monique L'HOSTIS – Retraitée, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Parasitologie, santé des abeilles.
- M. François MEURENS – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Virologie, immunologie, vaccinologie, pathologie porcine.
- Mme Virginie MICHEL – Coordinatrice Nationale Bien-être Animal - Anses - Bien-être animal approche intégrée de la santé animale, épidémiologie, évaluation de risque.
- M. Pierre MORMEDE – Directeur de recherche émérite INRA - Bien-être animal, stress.
- M. Hervé MORVAN – Chef de service du laboratoire de bactériologie vétérinaire, Labocéa 22 - Bactériologie, diagnostic de laboratoire.
- Mme Carine PARAUD – Chargée de projet de recherche en parasitologie, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort – Parasitologie, maladies des ruminants.
- Mme Ariane PAYNE – Chargée d'étude, ONCFS - Epidémiologie, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques.
- M. Michel PEPIN – Professeur, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon – Infectiologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants.
- Mme Carole PEROZ – Maître de conférences, Oniris Ecole Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, maladies réglementées, approche intégrée de la santé animale.

Mme Claire PONSART – Chef de l'unité des zoonoses bactériennes, Laboratoire de Santé Animale, Anses Maisons-Alfort - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire.

M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège - Epidémiologie, évaluation de risque.

Mme Gaëlle SIMON – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Virologie Immunologie Porcines, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Virologie, immunologie, maladies des monogastriques.

M. Jean-Pierre VAILLANCOURT – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal - Epidémiologie, biosécurité, zoonose, évaluation de risque.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Charlotte DUNOYER – Chef d'unité d'évaluation des risques en santé, alimentation et bien-être des animaux – Anses

Mme Catherine COLLIGNON – Coordinatrice scientifique d'expertise - Anses

Contribution scientifique

M Jean-Claude ROUBY – Chef de l'Unité d'évaluation des médicaments immunologiques, Anses-ANMV

Mme Anne THEBAULT - Unité méthodologie et études (UME), Anses-Direction de l'Evaluation des Risques

Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET - Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

M. Bruno GARIN-BASTUJI - Conseiller Scientifique Santé Animale, Direction de la Stratégie et des Programmes, Anses.

Mme Claire PONSART - Chef de l'unité des zoonoses bactériennes, Laboratoire de Santé Animale de l'Anses Maisons-Alfort

Mme Sophie ROSSI – Chef de projet - Equipe "Maladies transmissibles", Unité sanitaire de la faune, ONCFS

Table des matières

Présentation des intervenants.....	3
Table des matières.....	6
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise.....	8
1.1 Contexte.....	8
1.2 Objet de la saisine.....	9
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	9
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	10
1.5 Périmètre et limitations du champ d'expertise	10
2 Objectifs de gestion.....	12
3 Bilan des opérations de suivi populationnel et sanitaire.....	15
3.1 Mesures de gestion appliquées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012.....	15
3.1.1 Suivi populationnel des bouquetins du Bargy.....	17
3.2 Surveillance de la brucellose dans la population des bouquetins du Bargy.....	24
3.2.1 Identification d'une infection spatialisée	24
3.2.2 Deux sous-populations de statut sanitaire différent vis-à-vis de la brucellose.....	26
4 Estimation du risque brucellique.....	30
4.1 Pour les animaux.....	30
4.1.1 Bouquetins	30
4.1.2 Autres espèces sauvages.....	32
4.1.3 Animaux domestiques.....	33
4.2 Pour l'homme	33
5 La vaccination du bouquetin : innocuité et efficacité	36
5.1 Attendus de la vaccination en termes d'innocuité.....	36
5.1.1 Effets indésirables de la souche REV.1 chez le bouquetin	36
5.1.2 Evaluation des conséquences	42
5.2 Attendus de la vaccination des bouquetins en termes d'efficacité.....	44
5.2.1 A l'échelon individuel (études expérimentales).....	45
5.2.2 A l'échelon populationnel (études de terrain)	47
6 Evaluation des bénéfices et des risques liés au recours à la vaccination des bouquetins dans les scénarios de gestion de la brucellose dans le massif du Bargy.....	51
6.1 Rappel des scénarios sanitaires de gestion sectorisés	51
6.2 Evaluation de l'apport de la vaccination dans la stratégie actuelle de lutte contre la brucellose du bouquetin.....	54
6.2.1 Scénario envisagé pour un ajout éventuel de la vaccination.....	54

6.2.2	Eléments sur la sécurité du vaccin : discussion.	54
6.2.3	Eléments sur l'efficacité du vaccin. Discussion.	58
7	Réponses aux questions de la saisine	61
7.1	Question 1	61
7.1.1	Objectif des mesures de gestion	61
7.1.2	Apport de l'étude vaccinale	62
7.1.3	Scénario de gestion	62
7.1.4	Modalités possibles de déploiement de la vaccination	62
7.1.5	Conclusions	63
7.2	Question 2	63
7.2.1	Contexte spécifique de cette vaccination	63
7.2.2	Evaluation des risques	63
7.2.3	Evaluation des bénéfices	64
7.2.4	Conclusions	64
8	Conclusions du groupe de travail	67
8.1	Contexte	67
8.2	Objectif des mesures de lutte	67
8.3	Situation populationnelle et sanitaire	68
8.4	Vaccin OCUREV® chez le bouquetin : innocuité – efficacité	68
8.5	Scénario intégrant la vaccination	70
8.6	Evaluation des bénéfices et des risques liés au scénario avec vaccination	70
9	Bibliographie	74
9.1	Publications	74
9.2	Normes	79
	Annexe 1 : Lettre de saisine	81
	Annexe 2 : Présentation des positions divergentes pour le chapitre 7 de réponse aux questions de la saisine.	78
	Annexe 3 - Etudes expérimentales relatives à l'efficacité de la vaccination avec la souche REV.1 chez la chèvre répertoriées dans la bibliographie .	80
	Annexe 4 : Glossaire	82
	Annexe 5 : Analyse statistique des résultats du suivi sanitaire des bouquetins du Bargy	84
	Annexe 6 : Incertitudes liées à la présente expertise	86

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

L'Anses a été saisie le 26 janvier 2018 par le Directeur Général de l'Alimentation et le Directeur général de l'aménagement, du logement et de la nature, pour la réalisation d'une expertise sur le déploiement de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose.

Suite à la découverte de deux cas humains de brucellose en France en 2012/2013, associés à la consommation, en 2011, d'un fromage frais au lait cru issu d'un élevage bovin laitier de Haute-Savoie (74) atteint de brucellose, la présence d'un réservoir sauvage de *Brucella melitensis* biovar 3 a été confirmée en 2012 dans la population de bouquetins des Alpes du massif du Bargy.

En parallèle à la mise en œuvre des investigations par les agents de l'ONCFS pour caractériser le foyer de brucellose identifié au sein de la population des bouquetins du massif du Bargy et des mesures de lutte sur le terrain, plusieurs saisines ont été traitées par l'Anses et ont donné lieu à plusieurs avis¹. Ces saisines portaient notamment sur l'évaluation des risques de transmission aux cheptels domestiques et à l'Homme, ainsi que sur l'analyse et l'évaluation de mesures de gestion adaptées au contexte particulier de l'évolution de l'infection brucellique au sein d'une espèce animale sauvage dispersée dans un massif montagneux.

Dans le rapport d'expertise collective de l'Anses 2014-SA-0218 paru en juillet 2015, qui consistait notamment à évaluer *a priori* et comparer différents scénarios de lutte sanitaire, le collectif d'experts du groupe de travail avait estimé que la vaccination du bouquetin pourrait être intéressante comme outil complémentaire susceptible d'améliorer l'efficacité des scénarios de base. Dans cette estimation, les experts faisaient l'hypothèse, en raison de la proximité

¹ -Saisine 2012-SA-0115 : Survie de *Brucella* dans les produits laitiers. Demandeur : Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2012sa0115.pdf>

- Saisine 2013-SA-0082 : Modalités de surveillance des élevages. Demandeur : DGAL.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2013sa0082.pdf>

- Saisine 2013-SA-0129 : Mesures à prendre sur les bouquetins pour lutter contre la brucellose sur le massif du Bargy. Demandeurs : DGAL et DGALN (Direction Générale de l'Aménagement, du Logement et de la Nature) <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2013sa0129.pdf>

- Saisine 2014-SA-0218 : Mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy. Demandeurs : France Nature Environnement – Ligue de Protection des Oiseaux - Association pour la protection des animaux sauvages.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2014sa0218Ra.pdf>

- Saisine 2014-SA-0241 : Appui scientifique et technique relatif au dépistage des bouquetins infectés de brucellose sur le terrain. Demandeur : DGAL-DGALN.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO2014sa0241.pdf>

- Saisine 2016-SA-0146 : Définir et évaluer les critères préalables à une approche vaccinale contre la brucellose chez les bouquetins du Bargy. Demandeur : DGAL.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2016SA0146Ra.pdf>

- Saisine 2016-SA-0224 : Demande de réalisation d'une évaluation expérimentale de l'innocuité du vaccin OVIREV et de la réponse immunitaire chez le bouquetin des Alpes. Demandeurs : DGAL – DGALN.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/LABORATOIRE2016SA0224Ra.pdf> ;

<http://www.oncfs.gouv.fr/Espace-Presse-Actualites-ru16/Evaluation-de-l-innocuite-du-vaccin-anti-brucellique-amp-nbsp-news1942>

- Saisine 2016-SA-0229 : Evaluation approfondie et réactualisée de mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy. Demandeurs : DGAL-DGALN.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2016SA0229.pdf>

phylogénétique entre le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*) et la chèvre domestique (*Capra hircus*), que le vaccin atténué REV1 destiné à la vaccination des ovins et caprins domestiques contre la brucellose donnerait des résultats équivalents, en termes d'innocuité et d'efficacité, à ceux observés chez la chèvre. En l'absence de donnée scientifique étayant cette hypothèse, les experts avaient néanmoins recommandé, en préalable à toute éventuelle campagne de vaccination, de vérifier *a minima* l'innocuité de ce vaccin chez le bouquetin avant son utilisation sur le terrain.

Une étude (Anses et ONCFS 2016) a été effectuée à la demande de la DGAL pour définir et évaluer bibliographiquement les critères préalables à une approche vaccinale contre la brucellose chez les bouquetins du massif du Bargy. Cette étude a recommandé de conduire une expérimentation permettant la confirmation d'une innocuité équivalente du vaccin conjonctival OCUREV® chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique et l'évaluation de la capacité de diffusion de la souche dans l'environnement. Elle a abouti à la mise en place, entre octobre 2016 et juillet 2017, par un consortium ONCFS-INRA-MNHN-Anses, d'une étude expérimentale visant à comparer le niveau d'innocuité de ce vaccin conjonctival chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique, dont le rapport a été remis le 22 juillet 2017.

1.2 Objet de la saisine

La présente saisine fait suite à l'avis de l'Anses en date du 14 septembre 2017 (Anses 2017) dans lequel les experts avaient évalué plusieurs scénarios de gestion du foyer à la lumière des nouvelles données disponibles sur la situation épidémiologique et populationnelle des bouquetins du massif du Bargy montrant une spatialisation de l'infection brucellique chez ces animaux. Cependant, les résultats de l'expérimentation sur l'innocuité vaccinale n'étant pas disponibles au moment de leurs travaux, les experts avaient décidé de surseoir à l'évaluation de l'apport éventuel de la vaccination dans les scénarios examinés, la conditionnant à une nouvelle saisine dans le cas où, au vu des résultats de l'expérimentation vaccinale, les gestionnaires envisageraient d'utiliser le vaccin sur les bouquetins.

C'est l'objet de cette nouvelle saisine qui porte sur une évaluation complémentaire à la réponse apportée par la saisine 2016-SA-0229 (Anses 2017) en prenant en compte les résultats de l'expérimentation vaccinale. Deux questions sont posées :

- « En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ? »
- « Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué ? ».

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

Le traitement de la saisine relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisés « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA). L'Anses a confié l'instruction de cette saisine au groupe de travail « Vaccin Bouquetin », rattaché au CES « SABA ».

Ces analyses et conclusions sont issues d'un travail d'expertise collégiale au sein d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Le GT Vaccin Bouquetin était constitué de sept experts qui se sont réunis les 13 juin, 29 août, 1^{er} octobre, 13 décembre 2018, 31 janvier, 27 février et 22 mars 2019, puis ont échangé par téléphone pour la prise en compte des remarques du CES. La coordination de l'expertise était assurée par l'Unité d'évaluation des risques en santé, en alimentation et en bien-être des animaux (UERSABA).

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques) les 19 février, 19 mars et 16 avril 2019. Le rapport a été présenté au CES pour validation le 14 mai 2019. Le rapport d'expertise, produit par le GT Vaccin Bouquetin, tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

L'échéance initialement fixée par les demandeurs à mai 2018 a été reportée à mai 2019, compte tenu de la nécessité de disposer de données de suivi des bouquetins, non disponibles dans les temps initialement impartis.

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

1.5 Périmètre et limitations du champ d'expertise

Compte tenu du libellé de la saisine, deux questions sont posées : la première portant sur l'efficacité de l'outil vaccinal et la seconde sur son innocuité. Les experts ont jugé cependant que la question de l'innocuité, en conditionnant l'éventualité d'un recours possible à la vaccination des bouquetins, devait être examinée avant celle de l'efficacité.

- L'évaluation de l'innocuité de l'outil vaccinal (sachant que la souche vaccinale utilisée, vivante, possède un pouvoir pathogène résiduel) reposera sur l'analyse des résultats de l'expérimentation vaccinale et l'examen des données bibliographiques disponibles. L'objectif de cette analyse est d'estimer les conséquences de l'utilisation du vaccin REV1 *in natura* sur les bouquetins, tant pour la faune sauvage, à commencer par le bouquetin lui-même, que pour la faune domestique et l'Homme, en considérant en particulier le risque ajouté que représenterait l'excrétion de la souche REV1 par les animaux vaccinés.
- L'évaluation de l'efficacité de l'outil vaccinal revient à estimer les effets attendus, tant à l'échelon individuel chez le bouquetin vacciné, en termes de résistance à l'infection par la souche sauvage, qu'à l'échelon populationnel, en termes de réduction de la circulation de cette souche. Il est nécessaire, cependant, de souligner que l'expérimentation vaccinale réalisée dans le cadre de la saisine 2016-SA-0224 (Ponsart *et al.* 2017), ciblée sur la réponse sérologique et l'innocuité du vaccin OCUREV®, ne fournit aucune donnée sur la protection réellement conférée aux bouquetins vaccinés puisqu'il n'y a pas eu d'épreuve virulente. Cette absence de données oblige donc les experts à raisonner par analogie, en se référant aux données acquises chez les petits ruminants domestiques à la suite des campagnes de vaccination avec le vaccin OCUREV®, aux données recueillies dans le cadre des campagnes de vaccination d'autres espèces sauvages (bisons [*Bison bison*] et cervidés) menées depuis une quarantaine d'années en Amérique du Nord pour lutter contre des infections par une autre espèce de *Brucella* : *B. abortus*.

La confrontation des réponses aux deux questions débouchera sur l'analyse bénéfices/risques de la vaccination, conditionnant la possibilité d'évaluer l'apport de la vaccination dans les scénarios de gestion envisagés dans la saisine.

Comme cela a été indiqué dans les précédents avis, l'évaluation d'un scénario s'entend par rapport à un objectif clairement affiché et en prenant en compte, dans le cadre d'une gestion adaptative, l'état régulièrement actualisé de la situation démographique et sanitaire des bouquetins du Bargy² et l'effet des mesures de gestion déjà appliquées. En conséquence de quoi, les experts estiment nécessaire, avant d'y intégrer la vaccination, de réexaminer les scénarios de gestion de la brucellose précédemment proposés, en tenant compte de l'actualisation des données. Il faut

² Effectifs par secteurs, indice de reproduction, incidence et prévalence de l'infection brucellique

rappeler, en effet, que les données utilisées dans le traitement de la précédente saisine 2016-SA-0229 (Anses 2017) étaient celles collectées jusqu'en 2015, l'analyse des résultats des campagnes de suivi 2016-2017³ n'étant pas disponible avant la remise de l'avis correspondant. Il conviendrait d'y ajouter celles découlant des actions et investigations réalisées dans le massif jusqu'au printemps 2018.

L'idéal, dans les deux approches, avec ou sans vaccination, aurait été que les experts puissent disposer d'un modèle mathématique permettant une évaluation quantitative des différents scénarios de gestion. Un premier modèle utilisé pour évaluer certains scénarios présentés dans l'avis de l'Anses 2014-SA-0218 (Anses 2015) avait suggéré, sous réserve des hypothèses formulées (notamment sur les performances du vaccin), que la combinaison de la vaccination et d'une stratégie sanitaire pourrait permettre dans certains cas une extinction. Un nouveau modèle (Lambert, Gilot-Fromont, C., *et al.* 2018) prenant en compte les nouvelles données de terrain et les nouvelles connaissances sur la spatialisation de l'infection dans le massif est en cours d'élaboration, mais ne sera pas disponible dans le temps imparti pour le traitement de la présente saisine. L'évaluation réalisée dans le cadre de la présente expertise restera donc qualitative.

³ Les campagnes de suivi 2016-2017 permettaient de faire un bilan des mesures de gestion appliquées en 2015, comportant la capture de 125 individus avec abattage sélectif des séropositifs et l'abattage indiscriminé de 70 autres.

2 Objectifs de gestion

Les experts ont rappelé, dans l'avis de l'Anses relatif à la saisine 2016-SA-0229 (Anses 2017), que l'objectif primordial et principal de gestion est la protection de la santé publique, et donc la protection des cheptels domestiques exposés au risque brucellique. A cet égard, le niveau de risque de transmission au cheptel étant estimé minime à quasi-nul (comme rappelé au point 2.3), des mesures consistant à se donner les moyens de suivre régulièrement la séroprévalence chez les bouquetins, assorties à la surveillance des cheptels domestiques et à l'application de mesures de biosécurité, pourraient à elles seules satisfaire cet objectif, sans réduire cependant le risque de diffusion de la brucellose aux bouquetins du massif voisin des Aravis.

On notera que la surveillance de la brucellose chez les bouquetins suppose de les capturer (par téléanesthésie) et d'effectuer un test sérologique au pied de l'animal. Cela conduit à trouver des animaux séropositifs qui ne devraient pas être relâchés compte tenu de leur état sanitaire. Ils seraient donc euthanasiés. Le suivi de la séroprévalence chez les bouquetins s'accompagne donc forcément d'un minimum d'action sanitaire d'euthanasie sélective. Il ne s'agit donc pas d'une simple surveillance.

Des actions supplémentaires sont néanmoins possibles dans la population de bouquetins, pour contribuer à garantir ce bas niveau de risque dans la durée. Ces actions peuvent répondre à différents objectifs, déjà énoncés lors des saisines précédentes, à savoir :

1. maintenir les niveaux d'infection et surveiller ces niveaux, en maintenant la biosécurité en élevage,
2. faire diminuer la prévalence de l'infection à un niveau compatible avec, soit une extinction progressive naturelle de l'infection, soit un maintien à bas bruit en conservant des mesures de gestion,
3. éradiquer à court terme la brucellose chez les bouquetins.

Il a déjà été souligné et argumenté, dans les avis précédents, qu'une éradication à court terme (c'est-à-dire l'obtention d'une population assainie avec certitude dans un délai de 3-5 ans) de la brucellose chez les bouquetins était inatteignable, comme cela a été mis en évidence dans d'autres espèces ou d'autres contextes (National Academies of Sciences et Medicine 2017).

Les experts soulignent que l'objectif, affirmé dans la saisine, « d'éradication de la circulation de l'infection » ne paraît pas pertinent car non atteignable à court terme. Ils ont en revanche considéré comme réaliste la recherche d'un contrôle (maîtrise) de l'infection dans la population des bouquetins et ils ont ciblé leurs évaluations sur des stratégies sanitaires de gestion permettant de réduire la prévalence et/ou le nombre d'animaux infectés, en vue (1) de diminuer la probabilité de contact direct ou indirect des animaux domestiques avec un bouquetin infecté et (2) d'atteindre un niveau d'infection permettant d'augmenter la probabilité d'obtenir une extinction⁴ naturelle de l'infection.

La gestion du risque se définit ici comme une action pérenne, donc prolongée dans le temps, destinée à réduire et/ou maintenir l'infection à bas niveau. Tous les rapports de l'Anses sur ce sujet ont rappelé cette notion de long terme et ont en outre recommandé d'adopter le principe de la

⁴ Le terme d'« extinction » est habituellement utilisé pour qualifier la disparition spontanée d'une maladie, contrairement à l'« éradication » qui résulte d'actions volontaires mises en place dans le cadre d'un programme de lutte (Toma et Ganière 2013). Compte tenu du rappel ci-dessus sur le caractère jugé inatteignable de l'éradication de la brucellose dans une population d'animaux sauvages, ce terme ne sera pas utilisé dans le présent rapport.

gestion adaptative, pour ajuster les mesures de gestion d'une année sur l'autre en fonction des résultats de surveillance, qui permettent d'évaluer l'impact de ces mesures et de les réorienter le cas échéant.

La France a en outre une responsabilité envers l'espèce Bouquetin des Alpes, au titre de la mise en œuvre de la Directive Européenne Habitats Faune Flore (HFF)⁵. L'espèce est inscrite à l'Annexe V de cette Directive, ce qui oblige les Etats-membres de l'UE à ne pas effectuer de prélèvements qui puissent nuire au bon état de conservation de la population dans son aire de répartition naturelle. La France a également ratifié la Convention de Berne « Espèces de faune protégées » qui classe le bouquetin des Alpes dans son annexe III, et lui a donné un statut réglementaire d'« espèce protégée⁶ ». Ceci n'exclut pas de pouvoir déroger à son statut de protection dans des circonstances strictement encadrées⁷, en particulier (article 16.1 alinéa c de la Directive HFF) : *dans l'intérêt de la santé et de la sécurité publiques, ou pour d'autres raisons impératives d'intérêt public majeur, y compris de nature sociale ou économique, et pour des motifs qui comporteraient des conséquences bénéfiques primordiales pour l'environnement.* Ainsi, les dérogations pour capture et abattage de bouquetins de la population du massif du Bargy, qui se sont succédées depuis 2012, ont été accordées compte tenu du bon état actuel de conservation de l'espèce. Son statut est considéré, selon la Liste Rouge UICN-MNHN des espèces menacées en France 2017⁸, comme « favorable » à l'échelle du massif Alpin (classification « Least Concern » (LC) dans la nomenclature UICN), et « quasi menacé » (NT dans la nomenclature UICN) à l'échelle du territoire de la France métropolitaine⁹. D'autres enjeux à prendre en compte pour les interventions sont la sécurité des opérateurs en zone de haute montagne, le bien-être animal et des considérations éthiques de tuer le moins possible d'animaux, en particulier parmi ceux qui ne sont pas affectés par la maladie.

L'avis de l'Anses relatif à la saisine 2014-SA-0218 (Anses 2015) indiquait, sur la base d'un premier essai de modélisation, que les seuls scénarios offrant des perspectives d'extinction de l'infection intégraient la vaccination. Les scénarios concernés à cette époque étaient ceux d'une gestion globale et non ceux de la gestion sectorisée envisagée dans le cadre de la saisine 2016-SA-0229 (Anses 2017), à la suite de l'avancée des connaissances relatives à l'état sanitaire des bouquetins du Bargy et mise en place sur le terrain depuis 2016. De plus, les évaluations ayant été réalisées avec l'hypothèse d'un effet attendu de la vaccination comparable chez la chèvre et le bouquetin, une réserve avait été formulée pour conditionner une éventuelle décision de vacciner les bouquetins à des essais portant notamment sur l'innocuité de la souche vaccinale dans cette espèce (les essais sur l'efficacité étant techniquement irréalisables sur bouquetins, les mesures de biosécurité exigées étant incompatibles avec leur bien-être).

Pour résumer, toute mesure de gestion de risque doit répondre à un objectif préalablement défini, étant entendu, dans le contexte de l'infection brucellique des bouquetins du Bargy, qu'il doit s'agir d'une gestion adaptative, à moduler dans le temps pour tenir compte, à la fois, de l'évolution des connaissances des mécanismes régissant cette infection et de l'évolution de la situation sanitaire.

Face aux incertitudes, l'objectif le plus réaliste est la recherche d'un contrôle (maîtrise) de

⁵ Directive Habitats Faune Flore (DHFF) 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages

⁶ Arrêté du 23 avril 2007 fixant la liste des mammifères terrestres protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection ; le premier Arrêté inscrivant le bouquetin des Alpes dans la liste des espèces protégées françaises date du 17 avril 1981.

⁷ Code de l'environnement, notamment ses articles L. 411-1, L. 411-2, L. 415-1, L. 427-6, R. 331-85 et R. 411-8 et R. 411-13, et les arrêtés interministériels qui décrivent les conditions dans lesquelles des dérogations au statut d'espèce protégée peuvent être accordées par les préfets

⁸ <http://uicn.fr/wp-content/uploads/2017/11/liste-rouge-mammiferes-de-france-metropolitaine.pdf>

⁹ https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/61098/tab/statut

l'infection visant, du moins dans un premier temps, à réduire et ensuite maintenir l'infection à bas niveau dans la population des bouquetins, pouvant permettre à terme de tendre vers une extinction naturelle de l'infection.

3 Bilan des opérations de suivi populationnel et sanitaire

Les données des suivis conduits sur le terrain sur lesquelles étaient fondées le précédent avis de l'Anses en date du 14 septembre 2017 étaient celles collectées jusqu'en 2015. Le présent Avis tient compte, dans la mesure du possible, des données relatives aux mesures de gestion réalisées dans le massif, et des opérations de suivi populationnel et sanitaire effectuées jusqu'au printemps 2018.

3.1 Mesures de gestion appliquées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012

Le tableau 1 résume les différentes mesures de gestion appliquées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012 en termes de captures associées ou non à des euthanasies et d'abattages indiscriminés, au récapitulatif.

Les principales mesures de gestion appliquées au cours du temps comprennent :

- Des tirs sanitaires des animaux porteurs de lésions évocatrices de brucellose (2012-2013) ;
- L'euthanasie des animaux séropositifs après capture et réalisation d'un test sérologique au laboratoire et/ou *in situ*¹⁰. Commencée dès 2012, cette mesure a été appliquée certaines années, associées à un effort exceptionnel de capture comme en 2015 (20 recaptures d'individus précédemment marqués + 105 individus nouveaux). Le terme utilisé dans le présent rapport pour cette mesure sera « abattage sélectif », dans le sens où il suppose une sélection préalable des animaux éliminés ;
- L'abattage massif des animaux de 5 ans et plus (opéré à l'automne 2013) ;
- L'abattage indiscriminé d'animaux (au sens où il ne suppose pas de sélection préalable des animaux et il est effectué sans distinction d'âge), comme en 2016-2017-2018, sur les zones de forte séroprévalence du centre du massif¹¹ (appelées dans la suite « zone cœur ») ;

En 2018, les dispositions de l'arrêté préfectoral du 8 juin 2018 prévoyaient la capture et l'abattage sélectif de 50 bouquetins au maximum sur l'ensemble du massif, en ciblant préférentiellement la recapture d'animaux marqués (48 réalisées au 31 décembre 2018) et le tir indiscriminé de 20 bouquetins maximum non marqués en zone cœur (6 réalisés au 31 décembre 2018).

¹⁰ Au début (2012-2013), les animaux étaient testés avec les méthodes normalisées classiques (EAT + FC) en laboratoire et les animaux séropositifs étaient recherchés et abattus dans un 2^{ème} temps. Un test sérologique rapide, basé sur le principe d'immunochromatographie sur bandelette [LFIA (pour Lateral Flow Immunochromatographic Assay)], effectué *in situ* est utilisé depuis 2014.

¹¹ Zone cœur définie comme regroupant les secteurs des Petit et Grand Bargy et de Jallouvre-Peyre (cf 3.2)

Tableau 1 : Tableau simplifié des modalités de gestion (captures et abattages) effectuées dans la population de bouquetins du massif du Bargy de 2012 à 2018

Année	Modalités de gestion	Nombre de bouquetins concernés
2012	<ul style="list-style-type: none"> - Abattage sanitaire (signes cliniques observables à distance) - Capture, prise de sang, marquage et relâcher. Abattage des séropositifs après analyse ¹². 	<ul style="list-style-type: none"> - 2 mâles - 22 (14 femelles [dont 1 capture sur présence de signes cliniques observés à distance], 8 mâles) : 10 séropositifs, tirés ou mort en capture <p style="text-align: right;">Total éliminés : 12</p>
2013	<ul style="list-style-type: none"> - Abattage sanitaire (signes cliniques observables à distance) - Capture, prise de sang, marquage et relâcher. Abattage des séropositifs après analyse - Abattage indiscriminé d'animaux de 5 ans et plus 	<ul style="list-style-type: none"> - 13 individus suspects / 504 observés ; 6 abattus ¹³ - 55 (29 femelles, 26 mâles) : 19 tirés ou morts en capture - 233 (composition en sexe et âge non connue) <p style="text-align: right;">Total éliminés : 258</p>
2014	<ul style="list-style-type: none"> - Capture pour pose de colliers VHF ¹⁴ et GPS ¹⁵, test, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs - Recapture (animaux déjà marqués), test, euthanasie des séropositifs, relâcher des séronégatifs - Abattage indiscriminé d'animaux de 5 ans et plus 	<ul style="list-style-type: none"> - 61 (32 femelles, 29 mâles) : 30 séropositifs euthanasiés + 1 accident de capture - 10 (2 femelles, 8 mâles) : 1 séropositif euthanasié - 18 (10 femelles, 8 mâles) <p style="text-align: right;">Total éliminés : 50</p>
2015	<ul style="list-style-type: none"> - Capture pour pose de colliers VHF et GPS, test, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs - Recapture (animaux déjà marqués), test, euthanasie des séropositifs, relâcher des séronégatifs - Abattage indiscriminé d'animaux non marqués 	<ul style="list-style-type: none"> - 105 (59 femelles, 46 mâles) : 36 séropositifs euthanasiés - 20 (2 femelles, 18 mâles) : 2 séropositifs euthanasiés - + 10 morts accidents de capture/recapture <p style="text-align: right;">Total éliminés : 118</p>
2016	<ul style="list-style-type: none"> - Capture pour pose de colliers VHF et GPS, test, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs, ciblés en zone cœur - Recapture (animaux déjà marqués), test, euthanasie des séropositifs, relâcher des séronégatifs, ciblés en zone cœur 	<ul style="list-style-type: none"> - 20 (9 femelles, 11 mâles) : 4 séropositifs euthanasiés - 15 (8 femelles, 7 mâles) : 1 séropositif euthanasié <p style="text-align: right;">Total éliminés : 5</p>
2017	<ul style="list-style-type: none"> - Capture pour pose de colliers VHF et GPS, test, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs ciblés en zone cœur - Recapture (animaux déjà marqués), test, euthanasie des séropositifs, relâcher des séronégatifs ciblés en zone cœur - Abattage indiscriminé d'animaux non marqués en zone cœur (09/2017) 	<ul style="list-style-type: none"> - 22 (15 femelles, 7 mâles) : 6 séropositifs euthanasiés - 5 (2 femelles, 3 mâles), tous séronégatifs - 6 <p style="text-align: right;">Total éliminés : 12</p>
2018	<ul style="list-style-type: none"> - Capture pour pose de colliers VHF et GPS, test, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs (16 en zone cœur et 18 en périphérie) - Recapture (animaux déjà marqués), test, euthanasie des séropositifs, relâcher des séronégatifs - Abattage indiscriminé d'animaux non marqués 	<ul style="list-style-type: none"> - 34 : 6 séropositifs dont 3 euthanasiés ¹⁶ et 1 tirée postérieurement - 14, tous séronégatifs - 5 abattus, s'avérant tous séronégatifs <p style="text-align: right;">Total éliminés : 9</p>

¹² En 2012 et 2013 le test terrain n'était pas disponible. Réalisation du test au laboratoire. Les animaux séropositifs étaient retrouvés et abattus autant que possible. Le test terrain a été utilisé à partir de 2014 (Hars *et al.* 2015)

¹³ Les 6 animaux abattus ont fait l'objet d'autopsies et d'analyses approfondies (Lambert, Gilot-Fromont, Freycon, *et al.* 2018)

¹⁴ VHF = Very High Frequency. Colliers émettant des signaux dans les ondes à très haute fréquence

¹⁵ GPS = Global Positioning System. Colliers émetteurs basés sur le système de géolocalisation par satellite

¹⁶ Les 3 manquants sont des bouquetins trouvés négatifs au test rapide *in situ* (donc relâchés), mais qui se sont avérés positifs en EAT et FC au laboratoire ensuite (anomalie attribuée à une défaillance du lot des tests *in situ* utilisés. Deux n'ont pas été retrouvés et n'ont donc pas été abattus ; le troisième (une femelle) a été retrouvée et abattue ainsi que le groupe d'animaux qu'elle fréquentait (les 5 abattages indiscriminés)

La population estimée fin 2017 était de 306 bouquetins hors cabris.

Fin 2018, le nombre de bouquetins éliminés dans le cadre des mesures appliquées depuis 2012 s'élevait à 464 (124 animaux séropositifs tirés ou euthanasiés ou morts en capture, 340 animaux abattus par tirs indiscriminés, ciblés, ou présentant des signes cliniques).

De 2013 à 2018, sur 383 sujets capturés dans le massif du Bargy (319 captures et 64 recaptures), 259¹⁷ reconnus séronégatifs (199 parmi les « primo-capturés » et 60 confirmés négatifs parmi les recapturés) ont été marqués et relâchés, dont 219 animaux équipés et suivis en VHF ou GPS.

3.1.1 Suivi populationnel des bouquetins du Bargy

- **Evolution des effectifs de bouquetins**

La connaissance de la population des bouquetins du Bargy résulte de quatre groupes d'opérations :

- des méthodes indiciaires basées sur la répétition d'IP (Itinéraires Pédestres) effectués depuis 2013 qui servent de base aux estimations d'effectifs par méthode CMR (Capture-Marquage-Recapture, hors cabris) et à la détermination des indices de reproduction ;
- des suivis des animaux appareillés en systèmes GPS et VHF effectués depuis 2013 qui permettent de caractériser leur structure socio-spatiale et de tracer les mouvements des animaux ;
- des observations visuelles lors des opérations de prospection pédestre mises en œuvre en 2016 pour l'étude de la taille et composition des groupes (classes d'âge et sexe) ;
- des relevés des cohabitations entre les différentes espèces d'ongulés sauvages et domestiques par la méthode scan (Richomme, Gauthier, et Fromont 2006).

Les résultats des estimations de l'effectif des bouquetins du Bargy pour la période 2013-2017 sont présentés dans la figure1 [Carole Toïgo citée par (Rossi *et al.* 2018)]. Ils représentent l'effectif global des bouquetins dans le massif (hors cabris, lesquels ne peuvent pas être capturés et marqués et ne peuvent donc pas être pris en compte lors des estimations d'effectif par méthode CMR). En 2017 cet effectif était estimé entre 274 et 343 individus, indiquant une relative stabilité depuis les relevés de 2016. Les flèches rouges permettent d'identifier les effets des abattages importants effectués successivement à l'automne 2013 et en 2015.

La répartition socio-spatiale des bouquetins du massif en différents secteurs a été mise en évidence grâce au suivi de 37 bouquetins équipés d'un système GPS et les observations visuelles de 148 sujets marqués durant la période 2013-2016 (Marchand *et al.* 2017). Ces analyses ont en effet mis en évidence une structuration spatiale des bouquetins, en particulier des femelles, en 5 sous-unités populationnelles occupant chacune un secteur géographique identifiable du massif (Leschaux-Andey, Charmieux-Buclon, Jallouvre-Peyre, Petit Bargy et Grand Bargy). En revanche, si quelques mâles semblent montrer une occupation spatiale structurée selon le même schéma que les femelles, la plupart des mâles peut se déplacer sur plusieurs sous-unités ou parcourir l'ensemble du massif, en particulier (mais pas uniquement) pendant le rut. Des études sont en cours depuis 2017 pour confirmer cette structuration spatiale sur l'ensemble de la population en étudiant les flux entre secteurs et leur variation (notamment au cours du temps).

¹⁷ Dont 2 animaux marqués et relâchés qui se sont avérés séropositifs au contrôle en laboratoire mais n'ont pas été retrouvés.

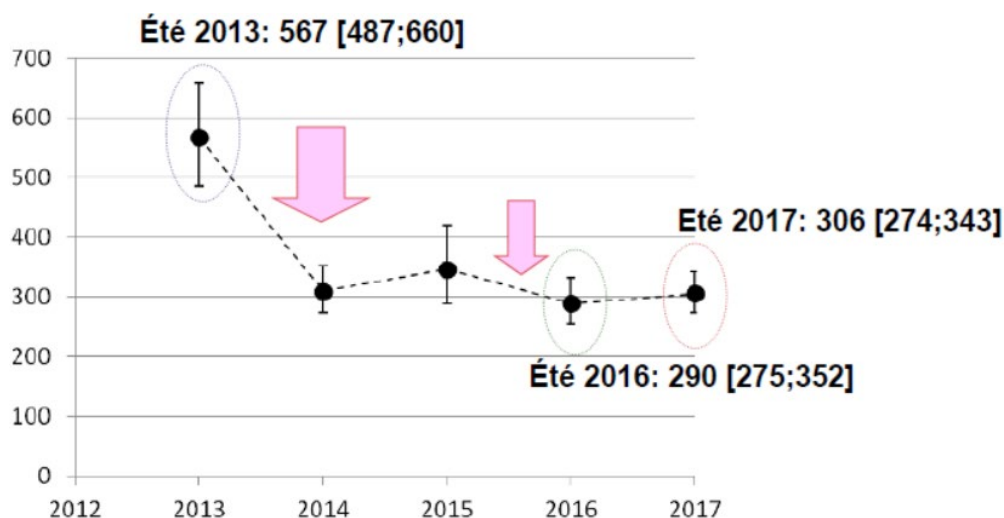


Figure 1 : Estimation des effectifs de bouquetins (hors cabris) de 2013 à 2017 [C. Toïgo citée par (Rossi *et al.* 2018)].

Ces données peuvent être complétées par l'estimation du nombre d'animaux par secteur (pour les femelles). Voir tableau 2.

Tableau 2 : données 2016-2017 sur les effectifs des femelles de plus de 2 ans (source ONCFS)

Secteur		2016	2017
Leschaux-Andey	Zone périphérique	26	20
Charmieux-Buclon		26	31
Petit Bargy	Zone cœur	31	33
Jallouvre-Peyre		41	47
Grand Bargy		14	11

En 2017, il a par ailleurs été comptabilisé 133 mâles sur tout le massif.

- **Suivi de la reproduction de la population de bouquetins du massif du Bargy**

Le suivi de la reproduction des femelles est central pour évaluer la dynamique des populations et pour apprécier l'impact clinique de la brucellose. Le succès de reproduction est fortement dépendant de la condition physique des femelles, elle-même liée à la densité de population lorsque les ressources sont limitées. En tant que maladie abortive, la brucellose impacte directement le succès de reproduction (en diminuant le nombre de naissance de cabris vivants). Un impact indirect est également possible si la brucellose entraîne une dégradation de la condition physique des animaux. Etudier le patron de reproduction des étagnes (femelles du bouquetin) en le décomposant depuis l'activité ovarienne, la gestation, et jusqu'à la naissance et la survie du cabri est donc crucial pour la compréhension des mécanismes du système bouquetin-brucellose.

a) Indices (ou taux) de reproduction

Deux types d'indicateurs sont disponibles, d'une part, un indice de reproduction calculé sur la base des observations faites sur les effectifs d'animaux tout-venants vus lors des opérations de prospection pédestre (nombre de femelles suitées au 1^{er} décembre/ nombre de femelles observées), disponible pour chaque saison d'observation depuis 2013, d'autre part, un indice de reproduction calculé à partir des femelles marquées de la classe d'âge 5 – 12 ans.

Les indices de reproduction pris en compte ici sont ceux calculés sur la base des observations faites sur les effectifs d'animaux tout-venants. Par cette méthode, le nombre de cabris par femelle de 3 ans et plus, atteint après la période de mise-bas, était estimé à : 0,23 en 2013 (ce taux anormalement bas pour une population considérée en état de densité-dépendance ayant

été attribué aux effets d'un hiver exceptionnel, à l'instar de toutes les populations de bouquetins des Alpes du Nord cet hiver-là) ; 0,39 en 2014 ; 0,52 en 2015 ; 0,48 en 2016 ; 0,47 en 2017¹⁸ (source ONCFS).

Ces résultats sont à comparer avec les données de la bibliographie. A partir des suivis en parc zoologique, (Stüwe et Grodinsky 1987) estiment le nombre maximal de cabris par femelle de 3 ans et plus à [0,8–1], ce qui donne un taux de multiplication maximum de 1,33 ; (Gauthier *et al.* 1994, Peracino et Bassano 1986) proposent les éléments suivants pour évaluer le succès des opérations de réintroduction (tableau 3). On y voit que l'âge à la première reproduction (primiparité) augmente aussi avec la densité de la population, ce qui contribue à une stabilisation du taux de multiplication.

Tableau 3 : Indicateurs démographiques comparés entre différents états de population par rapport aux ressources, d'après (Gauthier *et al.* 1994, Peracino et Bassano 1986)

	Population en régime de colonisation dans les 5 années suivant réintroduction	Population réintroduite après 10 ans	Population en régime de saturation (phénomène de densité dépendance)
Taux de reproduction	0,7 à 0,8	0,6	0,4 à 0,5
Taux de multiplication	1,3	1,1 à 1,2	1 à 1,05
Âge d'aptitude à la reproduction	Mode à 2 ans	Mode à 3 ans	Mode à 4-5 ans
Gémellarité	oui	rare	jamais

Les indices calculés de 2014 à 2017 sont cohérents avec une population en régime de saturation par rapport à la capacité d'accueil du milieu, (*cf.* tableau 3, taux de reproduction densité-dépendant).

N.B. : Les experts ont préféré retenir cet indicateur plutôt que celui calculé à partir des femelles marquées de la classe d'âge 5 – 12 ans qui constitue un standard biologique offrant en général une meilleure fiabilité mais qui, dans le cas présent, souffrait d'un biais de recrutement spécifique au Bargy, dans la mesure où les femelles marquées dans ce massif sont majoritairement de femelles séronégatives (car capturées, testées négatives, marquées et relâchées) et pluripares, donc moins susceptibles d'avoir une reproduction perturbée par la brucellose par rapport aux séropositives et aux primipares.

b) Activité ovarienne (source Carole Toïgo)

Le taux de progestérone permet de déterminer si une femelle présente une activité ovarienne et donc si elle peut prendre part au rut. Il indique aussi la maturité sexuelle chez les jeunes femelles.

Les seuils de progestéronémie considérés en fonction de l'activité sexuelle des étagnes sont les suivants (tableau 4) :

Tableau 4 : seuils de progestéronémie en fonction de l'activité ovarienne

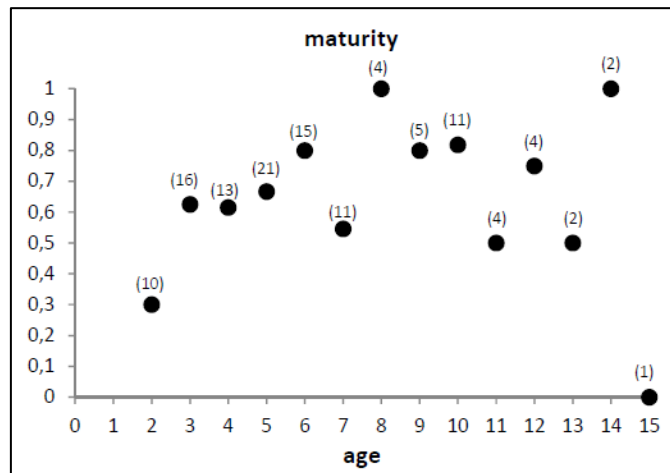
Progestéronémie ≤ 0,5 ng/L	0,5 ng/L < Progestéronémie < 5 ng/L	Progestéronémie > 5 ng/L
Absence d'activité ovarienne Pas de maturité sexuelle	Activité ovarienne sans gestation	Gestation en cours

Le bilan des analyses des dosages de progestérone au cours des différentes années de capture indique que les femelles de 2 ans ont une probabilité p d'être sexuellement matures

¹⁸ Les données de 2018 sont en cours d'analyse.

($p=0,30$, $\sigma^{19}=0,14$) inférieure aux femelles de 5 ans et plus ($p=0,71$, $\sigma=0,05$), mais les femelles de 3 et 4 ans sont en activité ovarienne avec une probabilité ($p=0,62$, $\sigma=0,09$) similaire à celle des plus âgées (figure 3).

Figure 3 : Proportion de femelles du Bargy en activité ovarienne (progestéronémie > 0,5ng/L) en fonction de l'âge pour les années 2012 à 2015 et 2017 (les données de 2016, où les échantillons de sang destinés au dosage hormonal ont été altérés, sont exclues) Les chiffres entre parenthèses précisent le nombre d'individus testés.



Il en ressort que dans la population du Bargy, la majorité des femelles est en capacité de se reproduire dès l'âge de 3 ans, ce qui situe cette population dans un statut intermédiaire entre une population jeune (en régime de colonisation) et une population arrivée à l'état de densité-dépendance (en régime de saturation) (cf tableau 3), ce qui ne correspond pas au statut suggéré par l'indice de reproduction, obtenu dans le paragraphe précédent (cf. point d).

c) Maturité sexuelle en fonction de l'année

Afin de détecter l'éventualité d'un changement de fonctionnement démographique, notamment en faveur d'une reprise démographique, les experts ont voulu examiner s'il y avait une évolution de l'indicateur le plus sensible = l'âge de primiparité. Malheureusement aucune analyse statistique de la variation de l'âge de la maturité sexuelle en fonction de l'année n'est possible compte tenu de la faible taille de l'échantillon : le dosage de la progestérone n'a pu être réalisé entre 2013 et 2017 que sur 11 femelles de 2 ans. Parmi elles, 3/7 jusqu'en 2015 présentaient des dosages compatibles avec une activité ovarienne, et aucune sur 4 en 2017.

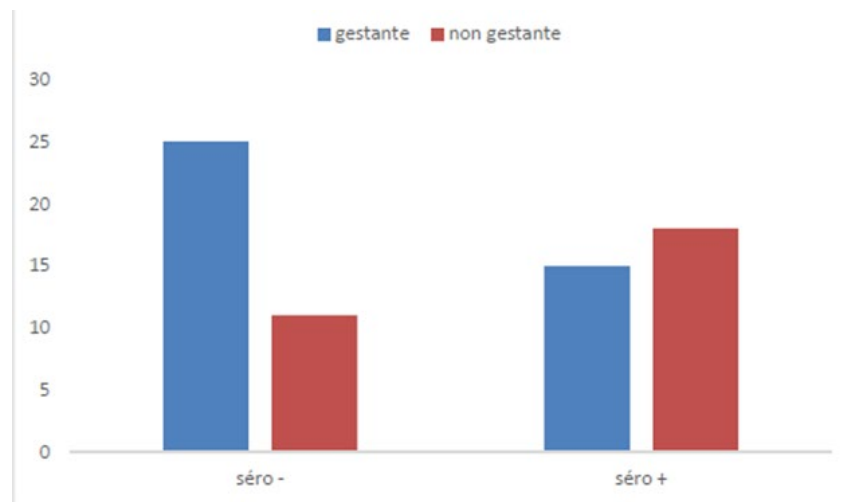
d) Evaluation de l'effet de la brucellose sur la reproduction

✓ Gestation

Le bilan des dosages de PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) en fonction des résultats des sérologies vis-à-vis de la brucellose est représenté en figure 4. Il, montre clairement une plus grande proportion de femelles non gestantes chez les animaux séropositifs.

¹⁹ σ =écart-type

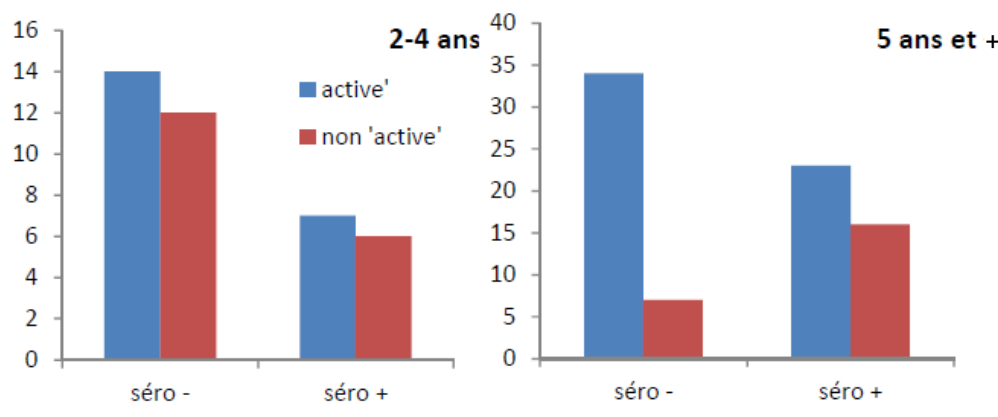
Figure 4 : nombre de femelles de 5-12 ans gestantes et non gestantes en fonction du statut brucellique



✓ **Activité ovarienne**

Le bilan des dosages de progestérone en fonction des résultats des sérologies vis-à-vis de la brucellose est représentée en figure 5.

Figure 5 : Nombre de femelles capturées entre 2013 et 2017 en activité ovarienne (progestéronémie > 0,5 ng/L) ou non, en fonction de leur statut brucellique et par classe d'âge.



Il ressort de cette analyse que dans la classe des 2 à 4 ans, aucune association entre séropositivité pour la brucellose et probabilité d'être mature n'est détectée²⁰. En revanche, les femelles adultes de 5 ans et plus présentent une absence ou une interruption d'activité ovarienne plus fréquente²¹ si elles sont séropositives (41% avec une progestéronémie < 0.5 ng/L chez les séropositives versus 17% chez les séronégatives).

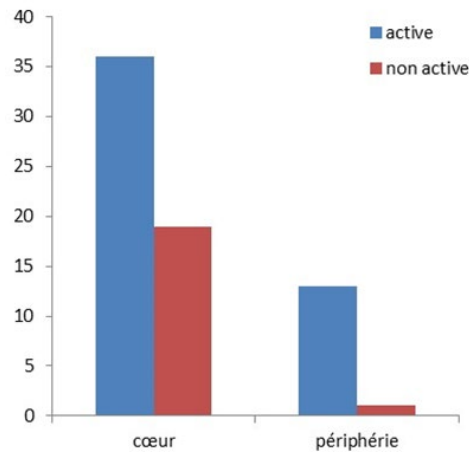
Ces résultats suggèrent que la brucellose pourrait avoir un impact au plan individuel sur le fonctionnement hormonal de l'ovaire des femelles bouquetins, passé l'âge de primiparité. Un tel phénomène n'est pour le moment pas décrit dans la littérature chez les ruminants. A noter toutefois que (Rossi 2005) rapporte une interruption du fonctionnement ovarien chez le Sanglier femelle infecté par une autre *Brucella* (*B. suis*).

²⁰ Modèle glm binomial considérant le statut brucellique pour la tranche d'âge 2-4 ans : p=1

²¹ Modèle glm binomial considérant le statut brucellique pour la tranche d'âge >4 ans : p=0,021

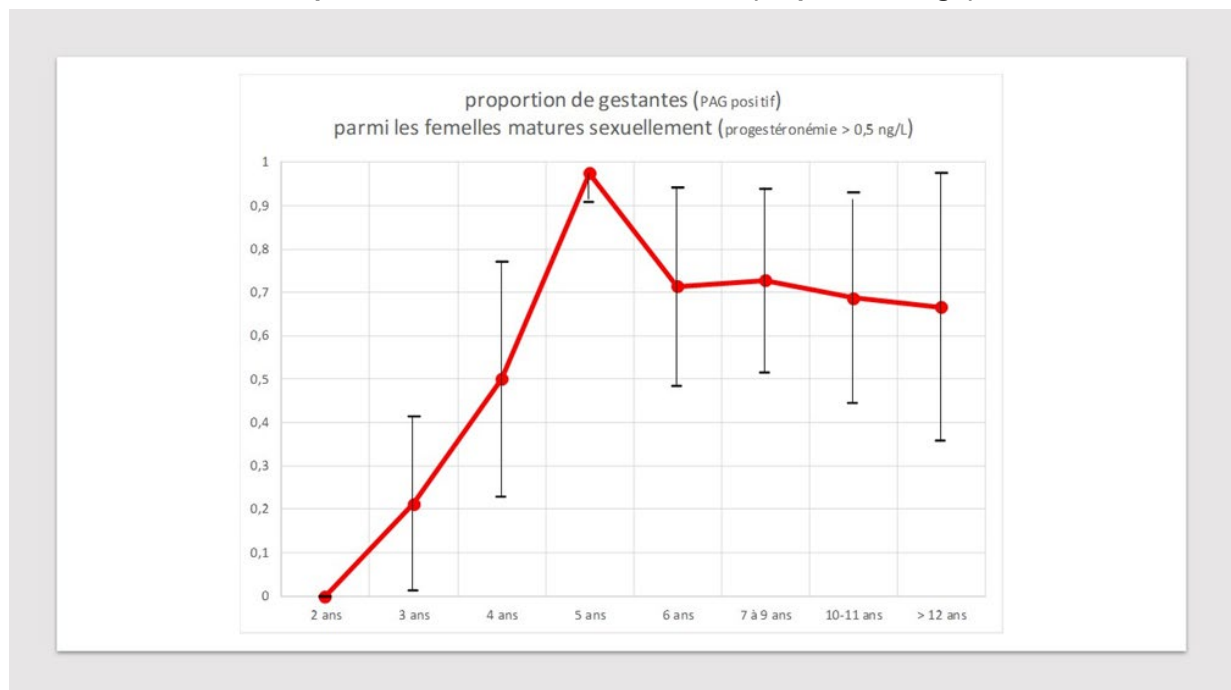
L'analyse des dosages de progestérone en fonction des secteurs du massif du Bargy, en comparant la zone à forte séroprévalence (dite zone cœur) et la zone à séroprévalence plus faible (dite zone périphérique), pourrait conforter cette hypothèse (figure 6) : en effet, la proportion de femelles de 5 ans à 12 ans n'ayant pas d'activité ovarienne semble supérieure en zone cœur par rapport à la zone périphérique. Il convient toutefois de noter que, même si la différence est forte d'après la figure 6, l'effet secteur est seulement à la limite d'être significatif²² (potentiellement du fait de la faible taille d'échantillon en périphérie). Quant aux jeunes femelles de 2-4 ans dont la progestérone a été dosée (n = 39), très peu ont été capturées en zone périphérique, rendant impossible toute comparaison.

Figure 6 : Nombre de femelles de 5-12 ans en activité ovarienne ou non en fonction du secteur



✓ Rapport entre activité ovarienne et gestation

Figure 7 : Proportion de femelles gestantes parmi les femelles en activité ovarienne pour les années 2012-2015 et 2017 (d'après C. Toïgo)



²² Modèle glm binomial considérant le secteur selon la classe de maturité sexuelle définie à partir du résultat d'activité ovarienne : p = 0,073

La figure 7 représente la proportion de femelles gestantes parmi les femelles matures sexuellement (i.e. ayant une progestéronémie >0,5 ng/L).

Une différence de proportion entre les femelles ayant une activité sexuelle et un diagnostic de gestation positif au printemps, observée pour les jeunes classes d'âge par rapport aux adultes, suggère que les femelles avorteraient lors de leur première gestation, puis que leurs performances de reproduction pourraient être moins affectées durant les gestations suivantes. Une hypothèse explicative serait que les femelles du Bargy, massif dans lequel la brucellose sévit de manière importante, présentent plus d'échecs de reproduction lors de leur première saison de reproduction (pouvant correspondre à la première exposition à l'infection brucellique) et retrouvent ultérieurement des performances similaires à celles des femelles d'autres populations (lorsqu'elles sont pluripares).

Ces effets mis en évidence chez les femelles de la population du Bargy : (i) absence ou perte de fonctionnement ovarien détectée chez une partie des femelles adultes ≥ 5 ans séropositives ; (ii) taux de gestation abaissé chez les jeunes femelles matures sexuellement par rapport aux multipares matures sexuellement, pourraient traduire l'impact de la brucellose et expliquer que le statut démographique qualifié d'intermédiaire au regard des caractéristiques de primiparité (cf point b) ne corresponde pas à celui suggéré par le taux de reproduction (cf point a) du fait de l'impact de la maladie qui s'ajouterait à l'effet de la densité-dépendance.

En outre, la brucellose pourrait ne pas être le seul facteur associé à une influence sur la reproduction. Cette hypothèse devra être évaluée par une analyse multivariée tenant compte de divers facteurs, notamment l'âge des femelles capturées et l'état de saturation des sous-populations échantillonnées

Ainsi, les données auxquelles le Groupe de Travail a eu accès suggèrent que :

- Il n'y a pas eu de phénomène de reprise démographique après l'abattage massif de 2013 (augmentation compensatrice du taux de reproduction et donc d'accroissement de la population si elle avait été en régime de (re-)colonisation). Ce phénomène est connu cependant pour se manifester après une certaine résilience (J.M. Gaillard, communication personnelle). Lors d'une précédente saisine, les experts avaient estimé que la reprise démographique dans le Bargy surviendrait entre 2 et 5 ans après l'abattage massif, mais elle ne s'est pas (ou pas encore) manifestée.
- Les indices de reproduction ces dernières années sont plutôt ceux d'une population en régime de saturation ; or dans le même temps, les mesures de l'activité hormonale ovarienne tendent à montrer une primiparité apparaissant principalement à l'âge de 3 ans, situant plutôt la population en statut intermédiaire. Ce décalage d'indicateur, conjointement à la trajectoire démographique attendue de la population après avoir été réduite de moitié (reproduction compensatrice, non constatée), pourrait être interprété comme une dépression des performances de reproduction liée à un facteur autre que la densité-dépendance, en l'occurrence un éventuel impact de l'infection brucellique sur la fertilité.
- Enfin, le GT n'a pas eu connaissance de données relatives à l'impact des mesures de gestion sur le comportement reproducteur des bouquetins mâles. Quel impact les abattages pourraient avoir eu sur la proportion et la classe d'âge des individus mâles qui se reproduisent ? La transmission de la brucellose ayant une composante vénérienne, ces éléments pourraient être de nature à modifier la dynamique de transmission de l'infection dans la population. Cette question est prise en compte dans l'étude de modélisation actuellement en cours, sur la dynamique de l'infection dans la population de bouquetins du massif du Bargy.

3.2 Surveillance de la brucellose dans la population des bouquetins du Bargy

La séroprévalence des bouquetins capturés et l'examen bactériologique des animaux autopsiés sont les seuls indicateurs disponibles pour suivre l'évolution du foyer depuis 2012 et pour estimer l'efficacité des mesures de lutte entreprises.

A la suite des premières captures, en prenant en compte toutes les classes d'âge et de sexe et en les rapportant à l'ensemble du massif, la séroprévalence apparente avait été estimée à 36% [26 - 48] en 2012-2013 et, après la campagne d'abattages massifs en automne 2013, à 43 % [31 - 55] en 2014 (pas de différence statistiquement significative).

En revanche, lors de l'analyse des données globales en 2015, il avait été mis en évidence un changement de la distribution de la séropositivité dans les classes d'âge et de sexe :

- augmentation de la séroprévalence chez les animaux de moins de 5 ans inclus (14% en 2013 → 45% en 2014, statistiquement significatif),
- diminution de la séroprévalence chez les animaux de 6 ans et plus (55% en 2013 → 39% en 2014, mais non statistiquement significatif).

Ce changement avait alors été interprété comme le résultat de la campagne d'abattages d'automne 2013 (Anses 2015).

3.2.1 Identification d'une infection spatialisée

Suite aux opérations de gestion de 2015, des analyses plus poussées ont pu être réalisées en confrontant les données de suivi des populations de bouquetins et de leur occupation de l'espace avec les données sanitaires. De cette analyse, il ressort que :

- La différence de taux de séroprévalence précédemment rapportée chez les femelles âgées de moins de 5 ans n'était qu'apparente et liée à un biais de recrutement lors de la réalisation des prélèvements en 2014, ces derniers étant réalisés dans des secteurs géographiques différents, qui se sont avérés héberger des noyaux de population à séroprévalence très différente (Marchand *et al.* 2017).
- En réalité, la séroprévalence augmente graduellement avec l'âge jusqu'à un plafond atteint autour de 8-10 ans puis diminue ensuite (figure 8), et ceci de façon semblable pour les 2 sexes.

L'augmentation de la séroprévalence avec l'âge des sujets dans une population est décrite dans les élevages dans lesquels l'infection est enzootique. Elle est aussi, en général, associée à une réduction progressive du titre en anticorps, ces derniers devenant de plus en plus difficile à détecter par les tests sérologiques classiques. Cette situation est le propre de la brucellose chronique, seulement détectable par des tests cutanés allergiques.

L'absence d'anticorps décelables n'est pas, cependant, synonyme de disparition de la bactérie, bien que la probabilité d'excrétion devienne faible.

Il faut rappeler par ailleurs, bien que des titres élevés aient été associés à une probabilité élevée de culture positive dans les tissus chez le bouquetin (Lambert, Gilot-Fromont, Freycon, *et al.* 2018), qu'une sérologie positive n'est pas nécessairement synonyme de multiplication bactérienne active ou d'excrétion. En effet, les analyses bactériologiques chez le bouquetin comme chez d'autres espèces peuvent s'avérer négatives sur une partie des séropositifs (nonobstant les difficultés rencontrées pour détecter un faible niveau de portage dans les tissus ; (Dobson et Meagher 1996, Lambert, Gilot-Fromont, Freycon, *et al.* 2018).

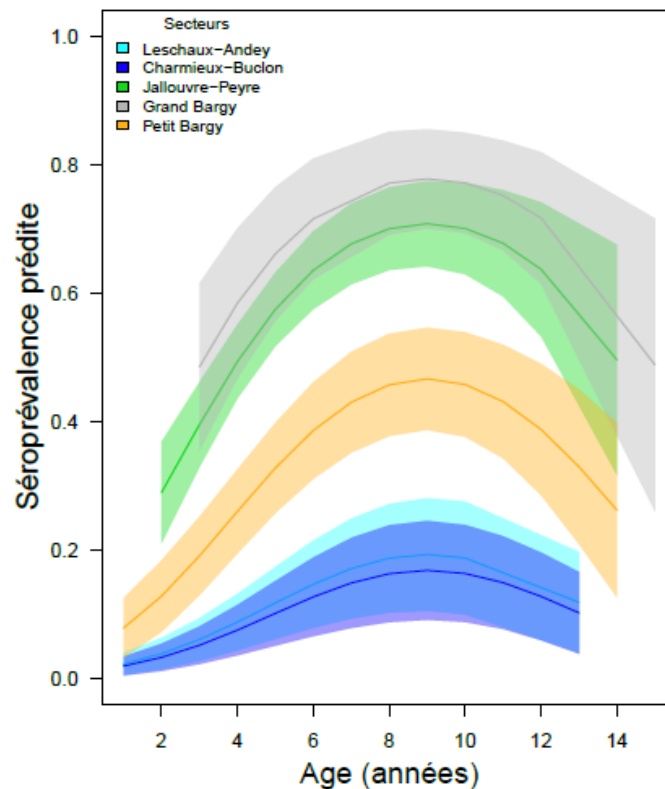


Figure 8 : Evolution de la séroprévalence de la brucellose des bouquetins dans les différents secteurs du massif du Barge en fonction de l'âge, telle que prédite par le modèle de régression logistique binômiale retenu pour en expliquer les variations (Marchand *et al.* 2017)

Leschaux-Andey et Charmieux-Buclon = zone périphérique
Grand Barge, Petit Barge et Jallouvre-Peyre = zone cœur

- En outre, la séroprévalence varie fortement d'un secteur à l'autre. Ainsi, les données collectées entre 2013 et 2015 montrent que la séroprévalence est particulièrement élevée (> 50%) dans les secteurs de Jallouvre-Peyre et Grand Barge, beaucoup plus faible dans les secteurs Leschaux-Andey et Charmieux-Buclon (environ 10%), le niveau étant intermédiaire (environ 35%) dans le secteur du Petit Barge (figures 8-9-10)

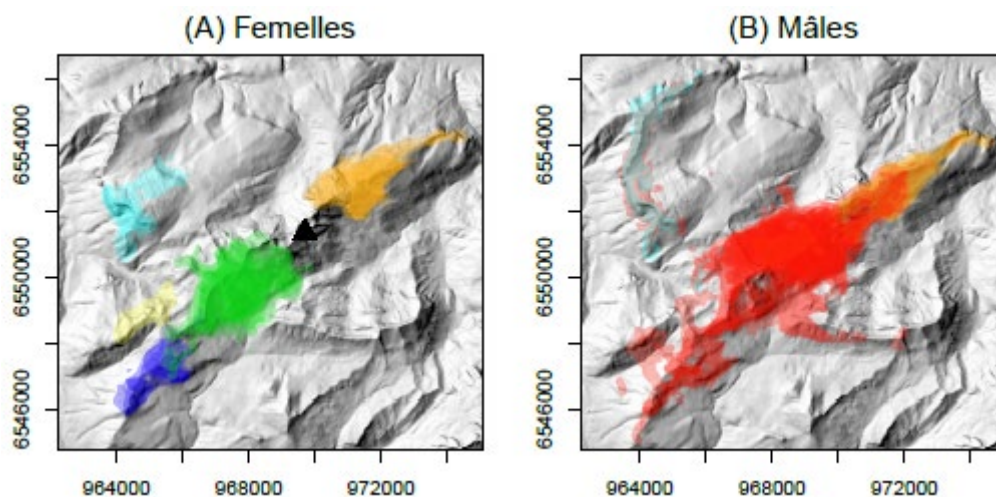


Figure 9 : représentation cartographique des domaines vitaux des femelles (gauche) et des mâles (droite) de chaque unité de population mise en évidence par l'analyse de leur chevauchement. (Marchand *et al.* 2017)

Bleu clair = Leschaux-Andey ; bleu foncé = Charmieux-Buclon, vert = Jallouvre-Peyre, noir = Grand Barge orange = Petit Barge

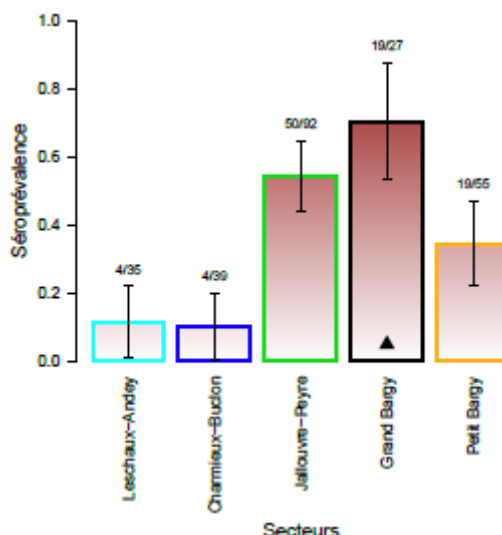


Figure 10 : séroprévalence (IC 95%) de la brucellose dans les différentes unités de population, sur la base des données 2012-2015 (Marchand *et al.* 2017)

Les secteurs Jallouvre-Peyre, Grand Bargy et Petit Bargy (réunis sous la mention « zone cœur ») constituent la zone la plus infectée.

Les études sur la spatialisation ont donc permis de corriger un premier biais dans l'analyse de l'épidémiologie de l'infection chez les bouquetins du Bargy.

3.2.2 Deux sous-populations de statut sanitaire différent vis-à-vis de la brucellose.

Un deuxième biais concerne les statuts sanitaires respectifs des animaux marqués/non marqués. Du fait que les captures étaient jusque-là ciblées en priorité sur les animaux non marqués, les estimations de séroprévalence portaient quasi-exclusivement sur cet échantillon de population.

L'extrapolation à la population générale, incluant les animaux marqués (et quasiment pas recapturés) est devenue de moins en moins pertinente, au fur et à mesure que le nombre d'animaux marqués augmentait dans la population, puisque ces derniers étaient sélectionnés sur leur statut séronégatif.

Ainsi, compte tenu de l'augmentation de la proportion de femelles marquées dans ces secteurs, passant de 6 % en 2013 à 38% en 2016 et 2017, il est devenu nécessaire de pondérer l'estimation de séroprévalence globale en prenant en compte les statuts sanitaires respectifs des individus non marqués (taille d'échantillonnage élevée : $n=319$ depuis 2013) et des individus marqués (taille d'échantillonnage réduite $n=12,8$ par an en moyenne).

Des travaux de modélisation sont actuellement en cours pour estimer par une approche bayésienne la séroprévalence de ces animaux non marqués (Sophie Rossi, communication personnelle).

A noter par ailleurs que des études récentes indiquent qu'il existe dans cette population de bouquetins du Bargy un génotype corrélé avec une fréquence d'infection plus faible, sans pour autant que l'on soit aujourd'hui capable d'en expliquer ni les mécanismes, ni les implications pour cette population (Quéméré *et al.* 2018).

Dans l'attente d'indications plus précises fournies par ces différentes études en cours, l'ONCFS a proposé une première analyse, sur la base des résultats des animaux capturés. Le tableau 5 présente la séroprévalence globale « corrigée », estimée à partir de celle des animaux capturés marqués (séronégatifs marqués et relâchés les années précédentes) et de celle des animaux non marqués (jamais testés auparavant), en tenant simplement compte de la proportion (respectivement 40 % et 60%) qu'ils représentent dans la population. A noter que ces estimations reposent sur un nombre faible d'individus, notamment pour les animaux marqués, d'où l'importance des travaux de modélisation en cours.

Tableau 5 : évolution de la séroprévalence au cours du temps en tenant compte des biais liés à la spatialisation de l'infection et à l'échantillonnage portant majoritairement sur les animaux non marqués (d'après S. Rossi, ONCFS)

	Bouquetins	Saisons de capture et tir 2013-2014-2015				Saisons de capture et tirs 2016-2017-2018			
		Séropositifs	Total	Séroprévalence	% d'animaux dans la classe ¹	Séropositifs	Total	Séroprévalence	% d'animaux dans la classe ¹
Zone cœur	Non marqués	92	180	51,1%	ND ²	16	50	32%	≈ 60%
	Marqués	2	24	8,3%	ND	1	28	3,6%	≈ 40%
						Séroprévalence « corrigée »³ : 20,6%			
Zone périphérique	Non marqués	9	77	11,7%	ND	1	26	3,8%	≈ 60%
	Marqués	1	5	1/5	ND	0	5	? (<3%)	≈ 40%
						Séroprévalence « corrigée »³ : N.D.			

¹% d'animaux dans la classe = proportion d'animaux marqués/non marqués dans la population

²ND : non déterminé

³séroprévalence corrigée : séroprévalence estimée en prenant en compte les séroprévalences respectives des individus non marqués et des individus marqués, affectées des proportions de ces animaux dans la population.

a) Analyse du tableau 5

Une analyse statistique du tableau 5 a été réalisée, dont les résultats figurent en annexe 2. Selon que l'on prend en compte une valeur de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques égale à 100% ou inférieure à 100%, les résultats de cette analyse statistique ne sont pas identiques. Nonobstant cette différence, il se dégage une tendance à la baisse de la séroprévalence, entre les périodes 2013-2015 et 2016-2018 en zone cœur, pour les animaux non marqués : elle passe d'environ la moitié, à environ le tiers des animaux).

L'évolution de la séroprévalence chez les animaux marqués ne peut pas être évaluée du fait du trop faible nombre d'animaux. Or, parmi ces animaux ayant été capturés une première fois, seuls les séronégatifs ont été relâchés. Il semble donc cohérent de faire l'hypothèse que cette population présente une séroprévalence inférieure à la population non marquée.

En outre, il convient de souligner que les résultats de séroprévalence « corrigée » ne sont que des estimations, susceptibles d'être remises en question du fait du petit nombre d'animaux marqués recapturés.

b) Informations issues d'auditions

Sans pouvoir l'objectiver, le GT n'ayant pas eu accès aux travaux en cours, il semble d'après des communications personnelles issues des auditions, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués et chez les animaux non marqués et à la fois en zone cœur et (au moins en tendance) en zone périphérique.

Au cours de son audition, l'ONCFS a indiqué que les objectifs de capture en 2018 visaient un nombre important d'animaux marqués à recapturer (le maximum possible parmi les 50 captures prévues) afin de pouvoir estimer une incidence de la brucellose chez ces animaux, identifiés séronégatifs à leur marquage. Cependant, la recapture des animaux est de plus en plus difficile (animaux de plus en plus méfiants, ne se laissant pas assez approcher).

Un seul animal a été trouvé séropositif parmi les 34 bouquetins recapturés sur la période 2016-2017-2018. Il s'est donc avéré impossible de définir une incidence de l'infection dans la population

car, même si l'on connaît la date de la précédente capture des animaux capturés-marqués-recapturés, ceux-ci sont beaucoup trop peu nombreux pour pouvoir estimer une incidence avec un degré de certitude suffisant.

Ainsi, il n'est pas possible à ce stade de savoir si cette apparente amélioration de la situation sanitaire en zone cœur résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante.

En effet, l'estimation de l'incidence dans cette population repose sur des captures-marquages-recaptures en nombre suffisant (recapture d'animaux marqués), ce qui n'a pas été le cas jusqu'à aujourd'hui.

En outre, les abattages massifs de 2013 visaient les animaux de plus de 5 ans. Ceci a certainement permis de retirer des animaux séropositifs, mais les animaux jeunes séropositifs sont restés, avec pour les jeunes femelles, une probabilité supérieure d'être excrétrices que pour les femelles plus âgées (Lambert, Gilot-Fromont, Freycon, *et al.* 2018).

Il est donc possible que les mesures de gestion aient entraîné une diminution de la séroprévalence, sans avoir pour autant fait diminuer de façon significative la circulation de *B. melitensis* au sein de la population restante.

Enfin, il convient de noter que les abattages massifs de 2013 et 2015, qui ont fortement diminué la population des bouquetins du Bargy, peuvent avoir pour conséquence un rebond de la dynamique de cette population à l'issue d'une période de latence d'environ 5 ans (Anses 2015). La probabilité d'observer des signes de reprise de cette dynamique dans les années qui viennent n'est pas négligeable. Cette reprise de la dynamique de la population de bouquetins entraînerait une augmentation de la proportion de femelles prenant part à la reproduction, ainsi qu'une augmentation de la proportion d'animaux naïfs et pourrait ainsi avoir pour conséquence une augmentation de l'incidence de la maladie.

En résumé, des dernières données de suivi sanitaire disponibles il ressort que :

- 2 biais principaux dans l'analyse des données depuis 2013 ont été mis en évidence : le premier, qui porte sur la spatialisation de l'infection, a été corrigé ; le second, qui porte sur la différence de séroprévalence entre les animaux marqués/non marqués, est en cours d'analyse.
- En opérant un focus sur les données de sérologie des animaux non marqués pour les 2 périodes 2013-2015 et 2016-2018, on constate une tendance à la diminution de la séroprévalence en zone cœur entre les deux périodes, qui pourrait être attribuée aux mesures de gestion réalisées de 2013 à 2015. Cependant, les experts soulignent qu'il n'est pas possible d'extrapoler les résultats d'évolution de séroprévalence de cette sous-population d'animaux « non marqués » à la population générale.
- Sans pouvoir l'objectiver, le GT n'ayant pas eu accès aux travaux en cours, il semble d'après des communications personnelles issues des auditions, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués et chez les animaux non marqués et à la fois en zone cœur et (au moins en tendance) en zone périphérique.
- Il n'est pas possible d'estimer l'incidence sur la base des captures d'animaux recapturés dont le nombre est trop faible.
- Il convient d'être prudent sur les conclusions à plus long terme de cette apparente amélioration car il n'est pas possible à ce stade de savoir si elle résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence, par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante. En outre, cette amélioration pourrait éventuellement être remise en cause ultérieurement suite à une reprise de la dynamique de la population.

4 Estimation du risque brucellique

Le risque d'une contamination par la brucellose est ici estimé qualitativement, pour les animaux (faune sauvage et animaux domestiques) et l'Homme

4.1 Pour les animaux

4.1.1 Bouquetins

- **Au plan individuel**

Le faible nombre de sujets porteurs de lésions macroscopiques cliniquement atteints (moins de 5 %, présentant des arthrites et/ou des orchio-épididymites) détectés depuis la découverte du foyer en dépit de l'importance de la séroprévalence laisse supposer que le principal impact de l'infection brucellique des bouquetins résulte, comme chez les ruminants domestiques, des avortements et mortalités.

Comme indiqué au point 3.1.1, l'analyse des dosages de progestérone des étagnes du massif du Bargy (en lien avec leur activité ovarienne) met en évidence une différence entre femelles séronégatives et femelles séropositives (chez les 5-12 ans). Les femelles adultes ou multipares, de 5 ans et plus, pourraient avoir une probabilité plus grande de présenter une absence d'activité ovarienne si elles sont séropositives (ceci mériterait d'être confirmé par des analyses multivariées tenant compte de divers facteurs, notamment l'âge des femelles capturées et l'état de saturation des sous-populations échantillonnées).

En outre, la proportion de femelles non gestantes est plus élevée chez les animaux séropositifs que chez les séronégatifs.

Ces résultats suggèrent qu'au plan individuel, la brucellose a un certain impact sur la reproduction des femelles bouquetins.

Cela rejoint les observations faites chez les wapitis (*Cervus canadensis*) du Parc du Grand Yellowstone (GYP) indiquant que l'infection causerait une réduction substantielle de la probabilité de mise-bas chez les jeunes femelles²³.

- **Au plan démographique**

L'indice de reproduction, mesuré par le taux observé de cabris par femelle de 3 ans et plus, atteint après la période de mise-bas, devrait être inférieur à la normale, dès lors que la reproduction est impactée par une maladie abortive comme la brucellose, fortement installée dans une population.

Or, le taux bas (0,23) observé en 2013 a été attribué aux aléas climatiques, dans la mesure où les mêmes diminutions d'indice ont été observées dans toutes les populations de bouquetins des Alpes du Nord, suite à un enneigement prolongé. Comme indiqué au point 3.1.1, ce taux pour les années 2014 – 2015 – 2016 - 2017 situerait la population de bouquetins du Bargy dans un statut démographique proche de la densité-dépendance ; or dans le même temps, les mesures de l'activité hormonale ovarienne tendent à montrer une primiparité apparaissant principalement à 3 ans, situant plutôt la population en statut intermédiaire entre une population dynamique et une population en stabilité démographique. Ce décalage d'indicateur, conjointement à la trajectoire démographique attendue de la population après avoir été réduite de moitié (reproduction compensatrice, non constatée à ce jour), pourrait être interprétée comme une dépression des

²³ « Hidden costs of disease to greater Yellowstone elk. Brucellosis reduces pregnancy say USU ecologists »
<https://www.sciencedaily.com/releases/2018/10/181029135220.htm>. Consulté le 15/02/2019.

performances de reproduction liée à un facteur autre que la densité-dépendance, en l'occurrence un impact de la brucellose.

Comment se manifesterait cet impact de la brucellose ? Les données disponibles à ce jour ne permettent pas de tester cette hypothèse d'impact de la brucellose sur la démographie de la population du Bargy. La reprise attendue de la dynamique de la population, suite aux opérations d'abattage ne s'est pas (ou pas encore) manifestée dans le Bargy. Il est impossible d'estimer à ce stade s'il s'agit de l'impact de la brucellose ou si cette reprise peut naturellement intervenir plus de 5 ans après la réduction massive de la population de bouquetins.

Les observations effectuées chez d'autres espèces, et/ou pour d'autres *Brucella*, indiquent que la brucellose n'a habituellement pas, *in fine*, d'impact sur les populations de ruminants sauvages. Par exemple, des constatations ont été faites chez le Bison : en dépit de ses effets sur la reproduction, la brucellose n'est pas considérée comme un facteur de régulation important de la démographie des bisons du GYP (Dobson et Meagher 1996, Peterson, Grant, et Davis 1991).

Toutefois, il n'est pas impossible que la brucellose ralentisse le phénomène de reconstitution d'une population après une chute importante de sa démographie.

Enfin, aucune observation ne laisse présumer que l'infection brucellique affecte la survie des bouquetins infectés et aucune mortalité n'a été jusqu'à présent associée à la brucellose.

Selon les données relevées sur les animaux capturés, la séropositivité vis-à-vis de la brucellose semble associée à une moindre condition physique. En effet, des modèles linéaires testant l'interaction de l'âge et du statut sérologique sur le tour de poitrine ou la longueur interne de la corne droite montrent que les mâles séropositifs ont des cornes significativement plus courtes ($p < 0,0001$) et un tour de poitrine significativement plus petit ($p = 0,002$) que les séronégatifs quel que soit leur âge. Aucune différence significative n'a par contre été montrée pour les femelles. (C. Toigo, communication personnelle).

Ces résultats ne permettent pas de prédire un impact sur leur survie. Des études dans d'autres espèces ont montré, par ailleurs, que la brucellose (*B. abortus*) n'a qu'un faible effet, ou aucun effet sur la survie des bisons (Joly et Messier 2005), ce qui semble être également le cas chez le Wapiti (Benavides *et al.* 2017), alors que *B. abortus* impacte la survie de l'élan (*Alces alces*) (Forbes, Tessaro, et Lees 1996, Tessaro 1986).

En conclusion, même si le risque individuel lié à la brucellose chez le bouquetin n'est pas nul, il apparaît que le risque pour la population des bouquetins du Bargy peut être considéré comme négligeable à moyen terme.

Par ailleurs, il convient de souligner que l'infection brucellique chez les bouquetins est, à ce jour, *a priori* circonscrite au massif du Bargy. Toutefois, il n'est pas possible de se prononcer formellement sur l'état sanitaire des populations des massifs voisins que sont les Aravis et Sous-Dine, dans lesquels il n'existe pas de surveillance programmée. Compte tenu des passages d'animaux d'un massif à l'autre, le risque de contamination des populations voisines par des bouquetins infectés du massif du Bargy n'est pas nul.

(Marchand *et al.* 2017) et Rossi (communication personnelle) indiquent que sur 214 bouquetins équipés de dispositifs GPS ou VHF de 2012 à 2017, 7 mâles adultes sur 113 et aucune femelle sur 101 ont effectué un trajet entre les massifs du Bargy et des Aravis. Cet échange inter-massif avait été identifié précocement après la réintroduction dans les années 70 (Pasquier 1994). Ce taux d'échange est corroboré par (Quéméré *et al.* 2018), grâce à leurs travaux sur la génétique : ils montrent que sur 288 bouquetins échantillonnés et génotypés, 8 % des individus sont des migrants de première génération (assignation à un massif différent de celui où ils ont été capturés) et 5 % sont des descendants de ces migrants (hybrides, assignés conjointement à deux populations).

Ainsi, les experts estiment que, compte tenu de la faible fréquence des passages inter-massifs, l'infection ponctuelle éventuelle d'un bouquetin dans les Aravis ou dans le massif de Sous-Dine aurait une forte probabilité d'extinction naturelle, sauf si ces passages, au cours du temps,

concernaient à plusieurs reprises des animaux infectés. Ceci justifie la nécessité d'une surveillance régulière des massifs adjacents.

4.1.2 Autres espèces sauvages

Les espèces jugées les plus exposées sont les ruminants sauvages présents dans le massif du Bargy, à savoir les chamois (*Rupicapra rupicapra*) et les cervidés (*Cervus elaphus* et *Capreolus capreolus*) (Gauthier, Hars, et Rossi 1998).

- Les chamois atteints de brucellose peuvent présenter d'importants signes cliniques, voire de la mortalité. Une forte pathogénicité de *B. melitensis* a été en effet observée pour cette espèce (Garin-Bastuji *et al.* 1990). Cependant, un suivi de ces espèces de ruminants dans le massif est réalisé à chaque saison de chasse depuis 2012. Le nombre cumulé des animaux chassés de 2012 à 2017, dans les massifs contigus des Bornes et du Bargy, ayant fait l'objet de prélèvements s'élève à 348 chamois du Bargy + 105 des Aravis, 139 cerfs et 120 chevreuils. Seules deux femelles chamois, l'une âgée de 6 ans tirée le 16/09/2012, l'autre âgée de 7 ans tirée le 06/10/2013, chassées sur la commune du Reposoir avaient une sérologie positive.
- Le niveau de cohabitation entre ongulés sauvages et troupeaux domestiques, ainsi qu'entre ongulés sauvages entre eux, a été évalué au cours de plusieurs campagnes d'observation (Gauthier *et al.* 2014), conduisant à donner un index de risque de transmission directe (observation simultanée dans un rayon de 20 mètres) ou indirect (succession sur les mêmes lieux à moins de 28 jours d'intervalle). Ces auteurs ont effectué des relevés sur 12 unités pastorales cumulant 290 heures d'observation pendant 3 mois en utilisant la méthode scan (Richomme, Gauthier, et Fromont 2006), ce qui a permis de contacter 2348 groupes d'animaux.

Aucune observation simultanée de chamois et bouquetins n'a été relevée.

Quant aux successions sur les mêmes lieux (risque de transmission indirecte), cela a concerné 2 alpages pour le risque bouquetin vers chamois, à des niveaux très faibles. A noter que cette étude a été reconduite durant l'été 2018, donnant des résultats similaires (Petit *et al.* 2018).

Toutes ces données témoignent d'un faible risque de circulation de la brucellose entre les bouquetins et les autres ruminants sauvages qui partagent leur habitat et suggèrent que la brucellose du bouquetin ne constitue pas une menace susceptible d'affecter les populations des autres ongulés du massif.

Les données recueillies ne remettent pas non plus en question l'estimation faite dans l'avis 2013-SA-0129 (Anses 2013), estimant comme minimale (2 sur une échelle ordinale de 0 à 9) le risque que d'autres ruminants sauvages présents dans le massif deviennent réservoir primaire.

- Le rôle d'éventuelles autres espèces dans l'épidémiologie de la brucellose a déjà été envisagé par les experts et considéré comme négligeable.

Très peu de données et de littérature sont par ailleurs disponibles sur la contamination et le rôle de réservoir que peuvent avoir les autres mammifères sauvages présents dans une zone de montagne. Aucune étude, en particulier, n'a été conduite dans le massif pour rechercher d'éventuelles contaminations par *B. melitensis* biovar 3 responsable de l'infection des bouquetins, notamment chez le sanglier, sachant que cette espèce est connue comme réservoir en France de *B. suis* biovar 2.

Peu de données concernent, enfin, la possible contamination du renard roux (*Vulpes vulpes*), espèce également présente dans le massif du Bargy. Quelques observations font état, dans différentes régions du monde, d'infections brucelliques par *B. abortus* ou *B. suis* chez cette espèce (Davis *et al.* 1988), mais aucune donnée ne semble disponible, ni sur d'éventuels cas d'infection par *B. melitensis*, ni sur un rôle possible de source infectieuse.

Le renard roux est aussi évoqué comme un indicateur possible de l'existence d'un réservoir naturel de brucellose (infections par *B. microti* ou *B. suis* biovar 2 contractées à la suite de

l'ingestion de petits rongeurs ou de lièvres brucelliques), mais se comporte dans ce cas comme un cul de sac épidémiologique (Hofer *et al.* 2012).

4.1.3 Animaux domestiques

L'importance de la brucellose des ruminants domestiques résulte, d'une part, des pertes économiques importantes induites par les avortements et infertilités mais aussi et surtout par les restrictions aux mouvements des animaux et à la commercialisation des produits dans un secteur de fabrication de produits au lait cru ; d'autre part, de la gravité des cas de brucellose des humains infectés à leur contact ou suite à l'ingestion de lait et produits laitiers contaminés.

Un enjeu majeur chez les ruminants domestiques est le risque de perte du statut officiellement indemne de brucellose, en cas d'extension de l'infection à la suite de l'apparition d'un foyer primaire mal maîtrisé. Ce rappel souligne l'enjeu capital du maintien des mesures de biosécurité destinées à limiter les possibilités de contact entre bouquetins et troupeaux dans le massif et des mesures de surveillance sérologique des cheptels exposés.

- Le risque de transmission de la brucellose des bouquetins aux cheptels de ruminants domestiques est néanmoins négligeable, un seul foyer (élevage bovin) ayant été identifié en 2012. Ce risque avait été estimé dans l'avis 2014-SA-0218 comme « quasi-nul » à « minime » (1-2 sur une échelle ordinale de 0 à 9).

Dans l'étude de cohabitation entre ongulés sauvages et troupeaux domestiques citée *supra*, seuls 2 alpages sur 12 observés montraient des présences concomitantes de bouquetins et d'ovins-caprins. Les successions sur les mêmes lieux (risque de transmission indirecte) ont concerné 4 alpages pour le risque bouquetins vers cheptels domestiques, avec des index de risque assez élevés pour 2 alpages et très faibles pour 2 autres).

Indépendamment de la baisse de la pression infectieuse conférée par l'élimination de plus de la moitié des bouquetins du massif, une révision à la baisse de ce risque pourrait être envisagée, si la réduction de séroprévalence observée sur la période 2016-2018 se confirme et si les montées en alpage sont retardées dans les zones de pâture identifiées à risque, car fréquentées par les bouquetins au printemps, au moment des mise-bas.

- Le chien, sensible aux diverses espèces de *Brucella* comme *B. melitensis* ou *B. abortus*, est décrit comme un révélateur potentiel de l'infection des troupeaux avec lesquels il est en contact ; il a été parfois incriminé dans la transmission de l'infection aux bovins, aux petits ruminants et à l'Homme (Philippon, Roumy, et Renoux 1969). Des chiens, en particulier ceux qui sont utilisés pour la protection des brebis en alpage, peuvent être exposés à la brucellose sévissant chez les bouquetins en cas d'ingestion de tissus infectés (avorton, placenta). Aucune surveillance (recherche de séroconversion) n'a cependant été effectuée sur ces animaux. Des études réalisées avec des coyotes (*Canis latrans*) infectés à la suite de l'ingestion de placenta expérimentalement contaminé par *B. abortus* ont montré la possibilité d'une transmission à des génisses pâtureant dans la même zone (Davis *et al.* 1988). Cette possibilité doit être envisagée dans le cas de chiens infectés par *B. melitensis*. Néanmoins, et bien qu'ils puissent excréter des *Brucella* spp. dans leurs urines, leur rôle dans la contamination éventuelle des ruminants domestiques serait plus lié au fait qu'ils peuvent déplacer des produits contaminés trouvés dans des zones de mise-bas des bouquetins vers les zones de pâture, que celui de source infectieuse.

4.2 Pour l'homme

L'interdiction de la chasse du bouquetin des Alpes limite les cas éventuels de transmission par manipulation d'animaux infectés ou de leurs dépouilles et tissus, aux seuls agents et biologistes intervenant dans les opérations de gestion (captures, prélèvements, manipulations des animaux euthanasiés...) de la brucellose dans le massif. Ces personnes sont formées à la prévention du risque de transmission.

Hormis ce risque de contamination directe, le risque de transmission à l'Homme est donc conditionné à l'infection préalable de ruminants domestiques. Ce risque avait été estimé dans l'avis 2014-SA-0218 (Anses 2015) comme « quasi-nul » (1 sur une échelle de 0 à 9).

Conclusion intermédiaire

Le suivi de la situation sanitaire relative à la brucellose du bouquetin dans le Bargy est réalisé depuis 2012, sans toutefois que toutes les questions soulevées par ce foyer aient trouvé des réponses.

Les principales avancées sont la mise en évidence d'une structuration socio-spatiale des bouquetins femelles qui ne semble pas avoir été bouleversée par les mesures de maîtrise successivement appliquées (notamment les campagnes importantes de 2013 et 2015) et qui se sont soldées par l'élimination²⁴ de plus de 459 individus et le marquage de 257 animaux. Le marquage d'un nombre croissant d'animaux a conduit à distinguer 2 sous-populations d'animaux : les bouquetins marqués / non marqués.

Cette structuration est associée à un taux d'infection différencié en fonction des secteurs. Les secteurs Jallouvre-Peyre, Grand Bargy et Petit Bargy (réunis sous la mention « zone cœur ») constituent la zone la plus infectée. Dans cette zone, la séroprévalence est essentiellement estimée par l'échantillonnage d'animaux non marqués, les captures et les abattages ayant essentiellement ciblé cette catégorie d'animaux (très peu de captures-marquages-recaptures).

Sur la base des données auxquelles le Groupe de Travail a eu accès, et en opérant un focus sur les données issues des animaux non marqués, pour les 2 périodes 2013-2015 et 2016-2018, on constate une tendance à la diminution de séroprévalence en zone cœur entre les deux périodes, qui pourrait être attribuée aux mesures de gestion réalisées de 2013 à 2015. Cependant, les experts soulignent qu'il n'est pas possible d'extrapoler les résultats d'évolution de séroprévalence de cette sous-population d'animaux « non marqués » à la population générale.

Sans pouvoir l'objectiver, le GT n'ayant pas eu accès aux travaux en cours, il semble d'après des communications personnelles, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués et chez les animaux non marqués et à la fois en zone cœur et (au moins en tendance) en zone périphérique. Néanmoins ces suivis doivent être poursuivis, car il n'est pas possible à ce stade de savoir si cette possible amélioration résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence, par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante. En outre, cette amélioration pourrait éventuellement être remise en cause ultérieurement par une reprise de la dynamique de la population.

Malgré les données nouvellement acquises, les connaissances restent insuffisantes pour répondre aux interrogations sur les mécanismes régissant la dynamique de l'infection brucellique dans la population des bouquetins du Bargy (en particulier les mécanismes écologiques à l'origine de la structuration spatiale de l'infection), et sur les conséquences écologiques et épidémiologiques des précédentes opérations de gestion. Un point important serait de pouvoir définir si le mode majoritaire de transmission de la brucellose chez les bouquetins dépend ou non de la densité des animaux.

En termes de risques, l'infection brucellique n'apparaît pas avoir un impact significatif sur la dynamique de la population des bouquetins du Bargy à moyen terme. Le risque de diffusion de l'infection hors du massif existe et n'est pas estimé actuellement faute de données disponibles (pas de plan d'échantillonnage dans les massifs adjacents). L'infection brucellique chez les bouquetins représente, en outre, un risque négligeable de transmission pour d'autres espèces de la faune alpine (2 chamois reconnus infectés, l'un en 2012, l'autre en 2013), pour les ruminants domestiques (1 foyer bovin identifié en 2012) et pour les humains (aucun nouveau cas n'a été recensé depuis les 2 cas de brucellose alimentaire, liés au foyer bovin, reconnus en 2012-2013, indiquant une probabilité de survenue négligeable, même si les conséquences de ces cas de brucellose alimentaire peuvent être graves).

²⁴ Euthanasie des séropositifs et abattages indiscriminés

5 La vaccination du bouquetin : innocuité et efficacité

Diverses préparations vaccinales (souches vivantes atténuées ou vaccins sous-unités) dérivées de *B. melitensis* ont été étudiées (Goodwin et Pascual 2016, Yang *et al.* 2013), mais peu (c'est le cas des vaccins Rev.1 et H38) ont dépassé le stade expérimental.

L'ancien vaccin inactivé H38 (Renoux 1960) utilisé chez les petits ruminants dans les années 70 en France avant d'être remplacé en 1981 par le vaccin atténué REV.1 (Cornille 1996)²⁵, ne dispose plus d'AMM et n'est plus produit depuis longtemps.

Enfin, la préparation d'un autovaccin à partir de la souche sauvage de *B. melitensis* infectant les bouquetins du Bargy n'est pas envisageable au vu de la réglementation actuelle.

Le seul vaccin antibrucellique qu'il est possible de considérer aujourd'hui est donc la souche vivante atténuée REV.1 de *Brucella melitensis*, dont les critères de choix ont déjà été présentés dans le rapport d'AST 2016-SA-0146. La spécialité retenue, et la seule disponible à l'heure actuelle, est le vaccin conjonctival OCUREV®, contenant $1 - 2^{26} \times 10^9$ UFC par dose, disposant d'une AMM²⁷ en France pour une utilisation chez les ovins et caprins, et possiblement utilisable chez les bouquetins dans le cadre du principe de la « cascade » (même si l'article L.5143-4 du code de la Santé Publique n'a pas été rédigé pour les espèces animales sauvages).

Rappelons que l'unique référence à l'administration de ce vaccin chez le bouquetin est celle de l'expérimentation décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2017), dans laquelle la seule dose vaccinale testée est celle qui correspond à la dose préconisée pour les ovins et caprins.

5.1 Attendus de la vaccination en termes d'innocuité

La souche vaccinale REV.1 est une souche de *B. melitensis* biovar 1 vivante, atténuée par rapport à des souches sauvages de *B. melitensis*, mais ayant conservé un pouvoir pathogène résiduel. Cette caractéristique implique l'éventualité d'effets indésirables :

1. des conséquences cliniques chez le bouquetin vacciné ;
2. des interférences causées par le développement des anticorps vaccinaux dans le dépistage sérologique nécessaire au suivi de l'infection dans le massif ;
3. un risque de propagation liée à l'excrétion éventuelle de la souche dans l'environnement ;
4. un risque de sélection de mutants réverses pathogènes.

5.1.1 Effets indésirables de la souche REV.1 chez le bouquetin

La présente évaluation porte sur les conséquences de l'administration par instillation conjonctivale de la souche REV.1 ($1-2 \times 10^9$ UFC/dose) à des bouquetins sans distinction d'âge et de sexe.

²⁵ Le seul vaccin historiquement testé sur le terrain a été, en dehors de la souche REV.1 retenue par la suite pour la vaccination contre la brucellose ovine et caprine en France, le vaccin inactivé H 38 de Renoux (suspension de *B. melitensis* souche 53H38, inactivée par le formol et dispersée en adjuvant huileux) administrée par voie SC (Renoux 1960). Plusieurs dizaines de milliers de doses ont été utilisées chez des brebis dans le sud-est de la France entre 1972 et 1981 avec des résultats mitigés (Cornille 1996, Gilles 1977). Une expérimentation comparative avec épreuve virulente chez des chèvres gestantes a montré, en termes d'efficacité, la supériorité du vaccin préparé avec la souche REV.1 par rapport à la souche H38 (Gaumont, Trap, et Dhennin 1978). La vaccination H38 a été abandonnée au profit du REV.1 en 1981 (Cornille 1996).

²⁶ $1-2 \times 10^9$ UFC signifie que la quantité est de 10^9 UFC minimum et de 2×10^9 UFC maximum (il n'est pas possible d'avoir de quantité fixe lorsqu'il s'agit de vaccin). Les études d'innocuité doivent se faire avec la dose maximum, et les études d'efficacité avec la dose minimum.

²⁷ AMM = Autorisation de Mise sur le Marché

5.1.1.1 Pouvoir pathogène

La souche REV.1 possède un pouvoir pathogène résiduel qui varie selon l'espèce, l'âge et l'état physiologique des animaux lors de la vaccination, la voie d'administration et la dose vaccinale.

- Chez les ovins et les caprins, la vaccination, qu'elle soit pratiquée par voie SC ou par instillation conjonctivale, ne représente pas de risque lorsqu'elle est administrée aux agneaux ou chevreaux impubères (3-6 mois). On ne relève notamment pas de remontée de pharmacovigilance qui signale un quelconque effet pathogène du vaccin OCUREV® chez les caprins (source ANMV).

Il est difficile d'établir un parallèle avec le bouquetin, chez lequel la maturité sexuelle est atteinte vers 4 ans chez les mâles et à partir de la 2^{ème} année, le plus souvent vers 3 - 4 ans chez les femelles (tableau 3). Il convient de rappeler, en outre, que les captures de bouquetins et par conséquent, les vaccinations, ne sont possibles que sur des animaux de plus d'un an, les jeunes étant plus difficilement accessibles.

- Chez l'adulte, en revanche, la vaccination peut être une cause d'avortements chez la brebis et la chèvre, notamment si elle est administrée par la voie sous-cutanée (SC) à mi-gestation (Blasco 1997). L'administration conjonctivale réduit ce risque, sans toutefois l'éliminer (Jimenez de Bagues *et al.* 1989, Zundel *et al.* 1992).

Le taux d'avortements induits par le vaccin, très variable d'une étude à l'autre, peut être élevé, comme le montre l'étude de (Zundel *et al.* 1992) qui constate l'avortement de 10 chèvres sur 11 vaccinées à mi-gestation à l'âge 3 à 5 ans (6 chèvres avec 1×10^8 UFC/dose, 5 chèvres avec 3×10^8 UFC/dose par voie conjonctivale).

(Jimenez de Bagues *et al.* 1989) constatent que le taux d'avortements est le plus élevé et atteindre 100% lorsque les brebis sont vaccinées durant les 2 à 3 premiers mois de gestation (mi-gestation).

Dans une méta-analyse des publications portant sur les effets adverses des vaccins brucelliques, (Xie *et al.* 2018) notent un taux d'avortements (en tant que signe clinique) induits par le vaccin OCUREV® de 36,1% (pour 7 publications analysées), le plus fort taux étant observé chez les chèvres.

Le pouvoir pathogène résiduel chez les adultes n'est pas propre à la souche REV.1, et il est aussi décrit avec la souche *B. abortus* S19, qui provoque des avortements chez le bovin, le Bison et le Wapiti lorsqu'elle est administrée chez des femelles gestantes. C'est aussi le cas avec la souche *B. abortus* RB51 chez le Bison et le Wapiti (Yang *et al.* 2013). Ces études témoignent d'une plus forte sensibilité de ces 2 espèces à ces souches vaccinales par rapport aux bovins.

- L'expérimentation de vaccination des bouquetins décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2017) a porté sur des lots constitués de mâles et femelles âgés pour la plupart de 3 à 5 ans, donc pubères ; mais aucune des femelles n'était gestante. Néanmoins la diffusion systémique plus marquée dans cette espèce (bactériémie détectée jusqu'à J20 chez tous les bouquetins vaccinés et charge bactérienne importante dans de nombreux tissus, notamment la sphère uro-génitale) par comparaison à la chèvre domestique, suggère que Rev 1 a une pathogénicité résiduelle plus importante chez le bouquetin induisant une probabilité d'avortements élevée en cas de vaccination de femelles gestantes.

Il convient toutefois de noter que les bouquetins de l'expérimentation étaient en milieu semi-confiné, les conditions de détention de ces animaux ayant pu occasionner un stress susceptible d'avoir induit un biais dans l'étude. Cette incertitude demeure au regard de cette expérimentation.

- La même expérimentation a mis en évidence une persistance de la souche vaccinale chez les bouquetins durant toute la durée de l'expérimentation (90 jours). Cette persistance s'est révélée plus élevée (CFU) et plus longue que chez la chèvre.

Ces résultats conduisent à s'interroger sur la durée effective de cette persistance (au-delà des 90 jours de l'expérimentation). Une incertitude forte demeure sur cette persistance, au regard

des éléments apportés par l'expérimentation. Face à cette incertitude, les experts du GT n'ont pas tous la même approche :

- Pour un expert, les résultats rapportés dans la littérature suggèrent qu'en cas de dissémination dans l'organisme, l'animal développera une infection chronique à *Brucella* spp. C'est ce qu'on nomme le « hallmark », i.e. la signature d'une infection à *Brucella* spp.
- Pour les autres experts, les résultats obtenus ne permettent pas de dire si on assiste au début d'un décours, similaire à celui de la chèvre mais décalé dans le temps après un pic bactériémique beaucoup plus élevé, ou si l'invasion bactérienne est installée à long-terme. Or en cas de persistance longue, la probabilité d'une recolonisation placentaire suivie d'un avortement à la prochaine gestation ne serait pas nulle (à noter à titre indicatif le délai entre vaccination en juin (moment propice des captures) et le rut (en décembre-janvier) d'environ 180 jours, ce qui double la durée de persistance par rapport aux indications de l'expérimentation). Il en est de même pour la probabilité d'une transmission vénérienne par les mâles vaccinés lors de la saison de monte suivante. Si cette persistance durait toute la vie de l'animal, le risque d'avortement pourrait concerner les gestations ultérieures. Cela pourrait également générer une infection durable par la souche vaccinale avec possiblement des localisations articulaires.
- Il est à noter qu'aucune lésion macroscopique articulaire ou, chez les mâles, génitale n'a été observée dans l'expérience de vaccination décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2017), ni durant le suivi clinique des animaux, ni lors de leur autopsie après euthanasie. Le faible nombre d'animaux vaccinés et le délai assez court du suivi (90 jours au plus) ne permettent pas d'exclure leur possible développement. Même si l'absence (arthrites) ou la rareté (orchi-épididymites) de ce type de complication vaccinale est avérée chez les espèces domestiques, il est difficile d'extrapoler ces éléments à l'espèce bouquetin, compte tenu des différences observées au cours de l'expérimentation.
- Enfin, le fait de vacciner des bouquetins déjà infectés par la souche sauvage, mais non détectés comme tels, du fait d'un défaut éventuel de sensibilité du test rapide de dépistage utilisé, n'aurait que peu d'influence sur l'infection : le consensus dans la communauté scientifique est qu'une fois infecté par une souche sauvage, la vaccination ne permet pas d'éliminer la souche sauvage, mais tout au plus d'en réduire l'excrétion. En cas de vaccination d'un animal faussement négatif (déjà infecté), le risque est celui de considérer à tort l'animal, marqué après vaccination, comme non infecté et de le relâcher.

L'expérimentation de vaccination des bouquetins (dans des conditions de captivité, supposées stressantes pour des animaux de cette espèce) a montré une diffusion systémique plus marquée dans cette espèce par comparaison à la chèvre domestique, témoignant d'une sensibilité apparente plus importante et laissant supposer une probabilité d'avortements élevée en cas de vaccination de femelles gestantes.

La persistance de la souche vaccinale chez les bouquetins durant toute la durée de l'expérimentation conduit à s'interroger sur sa durée effective (au-delà des 90 jours de l'expérimentation). En cas de persistance longue, la probabilité d'une recolonisation placentaire suivie d'un avortement à la prochaine gestation ne serait pas nulle. Ceci pourrait également générer une infection durable par la souche vaccinale avec de possibles localisations articulaires.

5.1.1.2 Interférences avec le dépistage sérologique

Un inconvénient reconnu de la souche vaccinale REV.1 est d'induire la production d'anticorps dirigés contre le PS-O du lipopolysaccharide (LPS) bactérien, présent dans la membrane externe de toutes les *Brucella* en phase S, rendant impossible la différenciation entre les animaux vaccinés et ceux infectés, avec les tests sérologiques de dépistage utilisés classiquement en laboratoire ou sur le terrain (EAT, FC, ELISA indirect ou immunochromatographie sur bandelette). Une technique ELISA par compétition, pourrait permettre, dans une certaine mesure et avec un risque d'erreur important, de différencier animaux vaccinés et infectés (Garin-Bastuji *et al.* 2006). Ce test, à

condition qu'il puisse être validé chez le bouquetin, ne serait utilisable de toute façon, qu'*a posteriori*, et non au pied de l'animal.

C'est dans le but de réduire cet effet adverse que différentes procédures d'administration du vaccin ont été mises en place chez les ruminants domestiques, en vaccinant les jeunes ovins et caprins plutôt que les animaux pubères, en réduisant la dose vaccinale et/ou en choisissant la voie conjonctivale plutôt que la voie SC.

La solution largement retenue dans de nombreux pays dans la lutte contre la brucellose ovine et caprine est l'emploi du vaccin OCUREV® administré par instillation conjonctivale chez les jeunes âgés de 3 à 5 mois (OIE 2018), induisant dans ce cas une réponse sérologique faible et non durable, en général moins de 4 mois (Fensterbank, Verger, et Grayon 1987), permettant la mise en place des contrôles sérologiques dès l'âge de 12 à 18 mois.

La réponse sérologique est en revanche plus marquée lorsque la vaccination est pratiquée chez des adultes (Blasco 1997) et peut persister plus de 6 mois chez des chèvres vaccinées en cours de gestation (Zundel *et al.* 1992). Dans l'étude décrite dans l'AST 2016-SA-0146, seule 1 chèvre sur les 4 testées à J90 était encore positive en EAT et FC (les 4 étant positives au test ELISA indirect).

Les seules données disponibles chez le bouquetin sont celles de l'étude au cours de laquelle les caprins et les bouquetins adultes, vaccinés par voie conjonctivale, ont été suivis jusqu'à J 90 (Ponsart *et al.* 2018, Ponsart *et al.* 2017). Dans cette étude, les bouquetins ont montré des réponses sérologiques beaucoup plus intenses que chez les chèvres, allant de pair avec la dissémination et la multiplication importante de la souche vaccinale chez les animaux vaccinés. Malgré une chute de titre, les 4 bouquetins testés à J90 demeuraient positifs en EAT, FC et en ELISA indirect.

Les titres encore importants enregistrés à J90 au cours de l'expérimentation, font augurer d'une réponse sérologique prolongée (par rapport à la chèvre) et donc un risque d'interférence avec le dépistage sérologique, sur lequel est basée la surveillance de la brucellose dans le Bary.

5.1.1.3 Excrétion de la souche vaccinale

Au cours de l'expérimentation décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2017), des prélèvements et suivis ont été effectués de façon séquentielle sur 90 jours pour étudier la distribution de la souche vaccinale et sa capacité d'excrétion chez la chèvre (boucs et chèvres laitières de réforme) et le bouquetin (mâles et femelles).

- La proportion d'organes infectés était beaucoup plus élevée chez les bouquetins que chez les caprins domestiques.
 - La colonisation des nœuds lymphatiques (NL) de la tête dans les 2 espèces caractérise un envahissement locorégional attendu après administration oculaire de la souche vaccinale ; néanmoins son isolement dans les écouillons nasaux et oculaires (notamment à J20) apparaît plus fréquent chez les bouquetins.
 - La colonisation des NL de la sphère uro-génitale, indicatrice d'une large diffusion dans l'organisme, est également plus importante (charge bactérienne) chez le bouquetin, et elle est associée à l'isolement de la souche vaccinale chez 2 bouquetins parmi les 5 mâles vaccinés (chez le premier dans un écouillon préputial à J20 et J65, chez le second dans les urines à J45).
 - Bien qu'une diminution de la proportion d'organes infectés et de la charge bactérienne soit constatée entre J45 et J90, on constate que 3 bouquetins sur 4 et 2 chèvres sur 4 suivis jusqu'à la fin de l'étude sont encore porteurs de la bactérie à J90 (la charge bactérienne étant plus importante chez le bouquetin) dans certains NL de la sphère génitale.

L'éventualité d'une transmission de la souche vaccinale, sans doute associée à l'excrétion uro-génitale est confirmée par le développement d'une infection chez un des mâles

bouquetins contacts non vaccinés. Ces résultats posent par ailleurs la question d'une éventuelle transmission de la souche REV.1 par voie sexuelle.

La persistance de la souche vaccinale dans l'organisme des bouquetins à J90 et notamment sa présence dans certains nœuds lymphatiques de la sphère génitale laissent aussi présumer une persistance du risque d'excrétion. Toutefois, la durée de l'expérimentation, limitée à 90 jours, ne permet pas aux experts d'estimer les risques de persistance et d'excrétion au-delà de ce délai.

- Il manque dans l'expérimentation sus-désignée, dont aucune femelle vaccinée n'était en gestation ou en lactation, des données relatives au potentiel d'excrétion de la souche vaccinale dans les sécrétions vaginales et dans le lait, lors des avortements induits ou des mises-bas à terme. On peut se référer néanmoins au RCP²⁸ du vaccin OCUREV®, qui signale l'excrétion de la souche vaccinale par les petits ruminants domestiques vaccinés, y compris dans les exsudats corporels (excrétions et sécrétions, lait compris).

D'autres études chez la chèvre, telle celle de (Zundel *et al.* 1992) montrent chez des femelles vaccinées par instillation conjonctivale à l'âge de 3 à 5 ans à mi-gestation, outre une forte proportion d'avortements :

- une excrétion importante par voie génitale de la souche vaccinale REV.1 durant la première semaine, mais déclinant ensuite et disparaissant en 2 à 3 semaines,
- une excrétion faible et irrégulière dans le lait durant 2 à 3 semaines, à l'exception de 2 animaux sur 11 chez lesquels une excrétion dans le lait était encore observée 44 et 49 semaines après l'avortement.

Notons dans cette étude que les chèvres contacts non vaccinées, du fait des avortements chez les femelles vaccinées, ont toutes été infectées (mise en évidence d'une séroconversion) et que l'une d'entre elles, malgré une mise-bas apparemment normale, a excrété durant 8 jours la souche vaccinale dans les écoulements vaginaux.

Au vu des résultats obtenus dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2018), où les bouquetins semblent plus sensibles à la souche vaccinale que les chèvres, avec une colonisation systémique par cette souche plus importante et plus durable, les données décrites dans la littérature chez la chèvre en matière d'avortement et d'excrétion de la souche vaccinale apparaissent, aux experts, transposables *a minima* chez le bouquetin en cas de vaccination des femelles gestantes.

²⁸ RCP : Résumé des caractéristiques du produit

Nonobstant les conditions de promiscuité entre bouquetins et la situation de stress qui ont pu résulter de leur séjour en captivité durant l'expérimentation effectuée dans le cadre de l'AST 2016-SA-0146, le développement d'une infection chez un des mâles bouquetins contacts non vaccinés démontre une possibilité de diffusion de la souche vaccinale à partir des sujets vaccinés.

La persistance de la souche vaccinale dans l'organisme des bouquetins à J90 et notamment sa présence dans certains nœuds lymphatiques de la sphère génitale soulignent la possibilité d'excrétion et de diffusion au-delà de ce délai, sans permettre cependant aux experts d'en estimer le risque et la durée.

Bien que cette capacité d'excrétion puisse être généralisable à l'ensemble des bouquetins vaccinés, il est toutefois probable, comme cela est observé chez les petits ruminants, que le risque d'excrétion et de diffusion de la souche REV.1 soit essentiellement consécutif aux avortements secondaires à la vaccination des femelles gestantes, dont le risque de survenue paraît élevé compte tenu des charges bactériennes importantes observées chez le bouquetin vacciné.

5.1.1.4 Sélection d'un mutant réverse de la souche vaccinale

La souche vaccinale REV.1 est une souche à virulence résiduelle (par rapport à la souche sauvage dont elle dérive), la virulence étant définie comme une caractéristique intrinsèque de la souche génétiquement déterminée, conditionnant sa capacité à se multiplier et persister *in vivo* (Plommet 1995). Même si de nombreux gènes susceptibles d'intervenir dans la virulence des *Brucella* ont déjà été répertoriés (He 2012), les études réalisées par (Issa et Ashhab 2016), comparant le génome de la souche vaccinale avec des souches sauvages de *B. melitensis* n'ont pas permis jusqu'à présent de définir génétiquement des marqueurs associés à l'atténuation de la souche Rev.1. La virulence résiduelle peut être néanmoins quantifiée sur un modèle souris où elle est exprimée par le RT50 (« 50% recovery time »), calculé pour une souche REV.1 de référence, comme égal à $7,9 \pm 1,2$ semaines (OIE 2018).

La stabilité de la souche vaccinale est étudiée lors des étapes de production vaccinale, où deux paramètres sont contrôlés : l'atténuation de la souche et le risque de dissociation S-R (mutations affectant les gènes intervenant dans la synthèse du polysaccharide 0 de surface).

- L'atténuation de la souche est contrôlée par le calcul du RT50 effectué sur le lot de semence. Même si des anomalies ont pu être signalées, comme la sélection d'une souche REV.1-like pathogène, dans le lot de semence décrite en Afrique-du-Sud (Banai, Mayer, et Cohen 1990), il s'agit d'événements très rares.
- Le risque de dissociation S-R est fréquent lors d'entretien de la souche vaccinale *in vitro*, d'où l'obligation du contrôle de l'indice de dissociation, en cours de production des lots de vaccin et sur chaque lot de produit fini (par exemple le vaccin OCUREV®), selon les spécifications de l'OIE (OIE 2018). A noter que si cette dissociation rend la vaccination inefficace, elle n'est pas associée à une atténuation de la souche REV.1, du moins dans le modèle souris (Mancilla *et al.* 2013).

Mais le risque le plus important à évaluer ici est celui de la sélection éventuelle d'une souche pathogène obtenue par mutation(s) de la souche vaccinale chez le bouquetin (ré-acquisition de la virulence initiale). Ces mutations seraient supposées être favorisées par la multiplication importante de la souche vaccinale REV.1 chez cette espèce. Plusieurs mutations devraient être néanmoins sélectionnées afin de restaurer la virulence. La probabilité de ceci est particulièrement faible. Ce risque est en effet minoré par l'historique de cette souche vaccinale dont la stabilité n'a jamais été mise en cause, tant sur le terrain (au regard de sa large utilisation à des millions de doses vaccinales chez des millions de petits-ruminants) que dans le cadre d'études expérimentales (passages en série sur cobayes, ovins et caprins, y compris chez des femelles gestantes) (Banai 2002, Elberg et Faunce 1962, Ne'eman 1968, Ne'eman 1968). Les principaux questionnements signalés concernent l'isolement en Israël, à plusieurs reprises, sur des ovins, des caprins et des humains d'isolats atypiques de *B. melitensis* biotype 1 pathogènes possédant

certains caractères phénotypiques commun avec la souche REV.1 (Banai 2002, Banai *et al.* 1995), et qui se sont avérés être des mutants issus d'une souche sauvage, et non de la souche vaccinale (Banai 2002).

Sur la base de ces éléments, les experts considèrent négligeable le risque de sélection d'un mutant réverse de la souche vaccinale dans la population des bouquetins du Bary.

5.1.2 Evaluation des conséquences

5.1.2.1 Chez le bouquetin

- **Avortements**

En tant que mesure associée aux scénarios de lutte préalablement analysés, la vaccination s'adresserait aux bouquetins sans distinction d'âge ou de sexe susceptibles d'être capturés, et reconnus négatifs sur la base du test rapide de dépistage utilisé *in situ*.

En termes de santé des bouquetins, malgré la multiplication importante de la souche vaccinale et sa diffusion systémique dans l'organisme, aucune répercussion clinique n'est attendue chez les animaux capturés et vaccinés, hors vaccination de femelles gestantes et si la souche vaccinale ne s'avère pas persistante durant une grande partie de la vie de l'animal.

La conséquence la plus importante pour le bouquetin peut être alors considérée comme étant l'avortement, ou la mise-bas d'un nouveau-né mort, si la femelle est gestante.

Cet impact concernerait la gestation en cours. Il pourrait concerner les gestations ultérieures si la souche vaccinale persistait chez les animaux, donnée inconnue à ce jour.

- **Excrétion**

Le risque de diffusion de la souche vaccinale au sein des groupes de bouquetins à partir des bouquetins vaccinés est réel, la souche vaccinale étant susceptible d'être excrétée plusieurs jours à plusieurs mois dans les urines, les sécrétions génitales, le lait et surtout dans les produits de vidange utérine lors des avortements et mises-bas infectieuses.

Comme le montrent les observations de contamination d'un bouquetin mâle dans l'expérimentation décrite dans l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2018, Ponsart *et al.* 2017) ou celles de contamination des chèvres contacts non vaccinées exposées à des avortements induits par la souche REV.1 dans l'étude de (Zundel *et al.* 1992), ce risque est important si les animaux sont élevés en promiscuité en milieu clos, favorisant le contact entre animaux et les exposant à des doses virulentes plus importantes (notamment en cas d'avortements).

Cependant, ce risque de transmission direct ou indirect entre bouquetins est probablement plus faible en milieu naturel, d'autant que les femelles bouquetins s'isolent pour mettre bas. Aucune donnée n'existe sur l'impact réel qu'aurait cette diffusion *in natura* pour le bouquetin.

Il faut rappeler que si une transmission indirecte par l'intermédiaire du milieu extérieur souillé est décrite dans la brucellose, cette possibilité pourrait être réduite dans le cas de la souche REV.1, reconnue plus fragile que les souches sauvages, notamment au rayonnement UV (Al-Mariri 2008). Ajoutons qu'aucun des échantillons de fumier collectés au 68^{ème} jour de l'expérimentation dans l'AST 2016-SA-0146 n'a révélé la présence de *Brucella* (pour une détectabilité évaluée à 10⁴ UFC/g) (Ponsart *et al.* 2018).

Les données chez la chèvre²⁹ montrent que ce risque de transmission *via* l'excrétion est minime mais elles ne peuvent être facilement transposées au bouquetin. Néanmoins, la

²⁹ Dans l'étude de (Zundel *et al.* 1992) précédemment citée, les 12 chèvres contacts non vaccinées (dont 5 gestantes) ont présenté une séroconversion, seule une chèvre gestante a mis bas à terme d'un nouveau-né viable tout en excréant la souche vaccinale dans les écoulements vaginaux et le lait

contamination, qu'elle soit le résultat d'une ingestion, d'une inhalation ou d'un contact cutané ou muqueux, pourrait être assimilable à une vaccination et se traduirait, dans la majorité des cas, par une séroconversion. Le seul risque pour les bouquetins est en définitive celui de l'avortement et de considérer comme infecté un bouquetin ainsi contaminé.

Il est, enfin, difficile de savoir si on peut s'attendre ou non au développement d'une immunité protectrice en cas de transfert horizontal de la souche vaccinale REV.1 entre bouquetins. :

- s'il s'agit d'un animal naïf, cette éventualité est en effet conditionnée par la dose infectieuse reçue et la voie de contamination.
- si l'animal est déjà sensibilisé, un effet rappel est possible en fonction de la dose et de la voie d'exposition.

- **Persistance**

Comme exposé en 5.1.1.1., la persistance de la souche vaccinale chez les bouquetins durant toute la durée de l'expérimentation conduit à s'interroger sur la durée effective de cette persistance (au-delà des 90 jours de l'expérimentation).

Les conséquences pourraient alors dépasser celle de l'avortement qui suit la vaccination, en impactant les gestations ultérieures ou en permettant l'installation d'une infection durable par la souche vaccinale.

Cependant, aucun élément ne permet de prédire la durée de la persistance au-delà des 90 jours de l'expérimentation, ce qui ne permet pas de conclure quant à la réalité ou non de ces conséquences.

- **Mutant pathogène pour le bouquetin**

Sur la base des éléments exposés au point 5.1.1.3, et au regard de l'expérience acquise en élevage, les experts considèrent négligeable le risque de sélection d'un mutant réverse de la souche vaccinale dans la population des bouquetins du Bargy.

- **Interférence avec la surveillance de la brucellose chez les bouquetins**

La forte réaction sérologique détectée chez les bouquetins, encore importante 3 mois après leur vaccination, pourrait compliquer la surveillance et la gestion du foyer sauvage, puisqu'il n'existe pas, à ce jour, de technique sérologique réalisable au chevet de l'animal, permettant de distinguer les animaux infectés par la souche sauvage des animaux vaccinés par la souche REV.1.

5.1.2.2 Chez les autres espèces sauvages

L'excrétion éventuelle de la souche REV.1 au cours des semaines suivant la vaccination des bouquetins implique un risque de contamination de l'environnement (avortons et autres fluides issus de bouquetins vaccinés) et par conséquent, l'infection et la séroconversion « accidentelle » d'animaux par cette souche.

Concernant les chamois, en sympatrie avec les bouquetins, on notera que s'ils sont très sensibles à la souche sauvage, très peu ont été infectés jusqu'ici, comme l'attestent les suivis d'animaux chassés dans le massif du Bargy.

Ainsi, ce risque de transmission ne peut pas être supérieur à celui en rapport avec l'excrétion de la souche sauvage de *B. melitensis* biotype 3 par les bouquetins brucelliques,

5.1.2.3 Chez les animaux domestiques

Quatre espèces sont potentiellement exposées dans les semaines suivant la campagne de vaccination, essentiellement en cas d'avortement provoqué par la vaccination de femelles bouquetins gestantes : les ovins, les caprins, les bovins et les chiens.

- Le risque pour les ruminants domestiques, y compris pour les bovins, chez lesquels des transferts horizontaux occasionnels de la souche vaccinale REV.1 à partir de petits ruminants vaccinés ont été décrits, n'est pas supérieur à celui envisagé pour la souche sauvage, évalué

comme « quasi-nul » à « minime » (1-2 sur une échelle de 0 à 9). Même si des avortements sont possibles (Pishva et SALEHI 2008), le risque principal est celui d'une séroconversion « accidentelle ».

Si, sur le principe, la question peut se poser d'une évolution de la virulence de la souche vaccinale, par passage successifs sur différentes espèces (en l'occurrence ovins, caprins – bouquetins – bovins par contact), une telle éventualité n'est pas corroborée par les études relatives à sa stabilité (Banai 2002, Elberg et Faunce 1962, Ne'eman 1968, Ne'eman 1968). Ainsi, les experts considèrent ce risque comme quasi-nul.

- Le chien peut être aussi infecté par une souche REV.1, notamment en cas d'ingestion de tissus infectés (avorton, placenta) (Hinic *et al.* 2010). Mais, comme précédemment, ce risque n'est pas supérieur à celui envisagé pour la souche sauvage.

5.1.2.4 Chez l'Homme

La souche REV.1 peut être une cause de brucellose humaine, généralement sans gravité (Xie *et al.* 2018) en dépit de sa résistance à la streptomycine. L'infection humaine intervient le plus souvent à la suite d'inoculation ou projection conjonctivale accidentelle lors de la vaccination (Blasco et Diaz 1993). Elle peut aussi survenir à la suite de la manipulation de viscères d'animaux vaccinés (Otermin *et al.* 2004).

Le risque ajouté, par rapport au risque de contamination par la souche sauvage, peut concerner les agents chargés de l'instillation conjonctivale de la suspension vaccinale aux bouquetins capturés. Il peut être fortement réduit par des mesures de protection individuelle comme le port de gants et lunettes.

La vaccination des bouquetins ne peut être effectuée que sur des animaux capturés.

Les effets indésirables à prendre réellement en compte sont

- le risque d'avortement, lorsque la vaccination est effectuée sur une femelle bouquetin gestante,
- l'excrétion probable de la souche vaccinale dans l'environnement, en particulier en cas d'avortement ou mise bas,
- la séroconversion des bouquetins vaccinés
- la séroconversion des animaux contacts infectés par voie directe ou indirecte (contamination de l'environnement) à la suite de l'excrétion de la souche vaccinale par les animaux vaccinés.

En outre, un doute demeure sur le risque de persistance de la souche vaccinale chez le bouquetin (et sur les conséquences que cela pourrait avoir). Ce risque de persistance n'a en effet pas pu être objectivé au-delà des 90 jours de l'expérimentation du vaccin chez le bouquetin.

5.2 Attendus de la vaccination des bouquetins en termes d'efficacité

L'évaluation dans ce chapitre est conduite qualitativement sur la base des données expérimentales et bibliographiques disponibles, le plus souvent en procédant par analogie avec les expérimentations et observations de terrain relatives aux ruminants domestiques et aux espèces sauvages autres que les bouquetins.

En revanche, cette évaluation qualitative ne permettra pas de déterminer si l'objectif d'empêcher la circulation de l'agent pathogène pourrait être atteint, ni dans quels délais.

Certains critères habituellement utilisés pour mesurer l'efficacité protectrice d'un vaccin ne sont pas applicables dans la brucellose. C'est le cas notamment de la réponse sérologique dirigée contre les antigènes de surface. En effet, il est un fait établi (Roux 1972) que l'efficacité d'un vaccin anti-brucellique, repose principalement sur le développement d'une réponse à médiation

cellulaire dans laquelle interviennent notamment les cellules Th1 et les lymphocytes CD8+, la production d'IFN- γ et de TNF- γ , et les macrophages activés (Golding *et al.* 2001, Oliveira et Splitter 1995).

Il faut rappeler que la voie conjonctivale a été initialement développée dans le but de réduire la production des anticorps post-vaccinaux pour ne pas interférer avec la surveillance sérologique (Verger *et al.* 1995).

Le meilleur moyen de démontrer l'efficacité du vaccin contre la brucellose consiste à soumettre, en conditions de laboratoire, des animaux cibles vaccinés à une épreuve virulente (par inoculation ou naturelle) puis, afin d'en confirmer les effets sur le terrain, à mesurer l'impact de la vaccination sur l'évolution de l'infection dans les populations exposées.

Il s'agit, dans le premier cas, d'une approche individuelle portant sur un nombre limité d'animaux. Les critères habituellement utilisés pour apprécier l'efficacité vaccinale contre la brucellose chez les espèces cibles sont :

- la protection contre l'infection, objectivée par les examens bactériologiques pratiqués après euthanasie des animaux, montrant que les *Brucella* inoculées lors de l'épreuve virulente, sont absentes ou localisées aux nœuds lymphatiques du site d'inoculation, et n'ont pas diffusé plus largement, par exemple aux nœuds lymphatiques iliaques et rétro-mammaires ;
- la prévention/réduction de l'excrétion (avorton, placenta, sécrétions vaginales et lait)
- et/ou la prévention/réduction de l'avortement des femelles.

Dans les études de terrain,

- le principal paramètre utilisé est la réduction des avortements ;
- certaines études ont aussi été ciblées sur la réduction de la prévalence de l'infection dans la population humaine exposée aux animaux dans les zones d'enzootie brucellique (sachant ici que la vaccination, qui peut entraîner une réduction de l'excrétion bactérienne dans le lait chez les femelles vaccinées, est généralement associée à des campagnes de sensibilisation des populations exposées pour un traitement thermique du lait avant consommation, ce qui induit un biais dans l'appréciation des résultats).
- un 3^{ème} critère est enfin celui de la réduction de la séroprévalence de l'infection dans les populations animales vaccinées, dont les effets sont réellement mesurables seulement lorsque la vaccination ne concerne que les jeunes (contrôle sérologique possible à partir de 18 mois chez les petits ruminants).

5.2.1 A l'échelon individuel (études expérimentales)

5.2.1.1 Chez le bouquetin

L'étude expérimentale, conduite entre octobre 2016 et juillet 2017 (Ponsart *et al.* 2017) avait pour objectif de comparer le niveau d'innocuité du vaccin OCUREV®, administré par instillation oculaire chez le bouquetin et la chèvre. Elle n'avait pas pour objectif de mesurer l'efficacité de ce vaccin chez le bouquetin, dans la mesure où aucune épreuve virulente n'a été mise en œuvre.

En effet, le bio-confinement exigé pour les installations expérimentales, en matière de gestion du risque biologique lié à *B. melitensis*, est de niveau A3. Ce niveau est incompatible avec les exigences de bien-être animal pour le bouquetin des Alpes. Le maintien en espace confiné de niveau A3 des bouquetins n'est envisageable que sur de courtes périodes (inférieures à 2 semaines). Au-delà, les expériences antérieures se sont soldées par des échecs, avec mortalité et dépression immunitaire (Anses et ONCFS 2016).

Même si l'étude expérimentale a fourni un suivi précis de la réponse sérologique des animaux vaccinés, il a été souligné précédemment que le pouvoir protecteur des anticorps est marginal par rapport à la protection offerte par l'immunité à médiation cellulaire. Ainsi, la réponse sérologique n'est pas un indicateur d'efficacité pour un vaccin anti-brucellique.

Dans ce contexte, les experts ont pris en considération les principales données sur l'efficacité des vaccins anti-brucelliques chez les animaux domestiques, qui découlent d'expériences où les animaux vaccinés sont soumis à une épreuve virulente avec une souche pathogène.

5.2.1.2 Chez la chèvre

Les expérimentations réalisées sur la chèvre, espèce phylogénétiquement la plus proche du bouquetin et considérée plus sensible que les ovins (Zundel *et al.* 1992), ont été sélectionnées pour la présente analyse (*cf.* récapitulatif de ces expérimentations en annexe 3).

Ces études sur la chèvre sont peu nombreuses et anciennes, portant sur des sujets vaccinés avec la souche REV.1, soit par voie SC (Alton 1966, 1968, Elberg 1959, Elberg et Faunce 1957, Fensterbank, Verger, et Grayon 1987, Gaumont, Trap, et Dhennin 1978, Morgan *et al.* 1966), soit par voie conjonctivale (Fensterbank, Verger, et Grayon 1987).

Les épreuves virulentes sont pratiquées par inoculation ou, dans un cas (Alton 1966, 1968) par cohabitation avec des femelles précédemment inoculées par *B. melitensis* en cours de gestation et avortant, et sont réalisées dans 4 cas en cours de gestation (Alton 1966, 1968, Elberg et Faunce 1957, Fensterbank, Verger, et Grayon 1987, Gaumont, Trap, et Dhennin 1978).

Nonobstant les variations de l'épreuve virulente (dose inoculée, par voie conjonctivale ou sous-cutanée, variant de $8,5 \cdot 10^3$ à $9,5 \cdot 10^8$ UFC), toutes montrent, par rapport à des témoins non vaccinés, une réduction significative du degré d'infection (charge bactérienne plus faible et distribution plus restreinte), et chez les femelles éprouvées en cours de gestation, une réduction significative des avortements et de l'excrétion (objectivée par la recherche des bactéries dans le placenta, les sécrétions vaginales et/ou le lait chez les femelles) de bactéries de souche sauvage chez les sujets vaccinés.

La protection induite par la vaccination varie selon l'étude, de 100% (Elberg et Faunce 1957) à 46 % (Fensterbank, Verger, et Grayon 1987). Certains auteurs (Elberg 1959, Morgan *et al.* 1966) ont, en outre, montré un accroissement de la dose infectieuse 50^{30} (DI50) chez les chèvres vaccinées par rapport aux témoins (par exemple, DI50 égale à $5,36 \cdot 10^8$ UFC chez les chèvres vaccinées et $6,13 \cdot 10^4$ UFC chez les témoins pour obtenir une infection généralisée par *B. melitensis* H38 dans l'étude de (Morgan *et al.* 1966).

5.2.1.3 Comparaison bouquetin-chèvre

Les données de la bibliographie montrent qu'il est difficile de transposer les propriétés d'efficacité d'un vaccin anti-brucellique d'une espèce animale à l'autre, en particulier d'une espèce domestique à une espèce sauvage.

Cela a été largement documenté en regard des vaccins RB51 et S19 chez le Bison et le Wapiti, dont l'efficacité contre l'infection de ces espèces par *B. abortus* est inférieure à celle obtenue chez les bovins (Kreeger *et al.* 2002, Meyer et Meagher 1995, Olsen *et al.* 2006, Olsen et Johnson 2011, Olsen, Kreeger, et Palmer 2002).

En outre, malgré le faible nombre d'individus utilisés et la durée réduite de l'expérimentation, une indication apportée par l'AST 2016-SA-0146 (Ponsart *et al.* 2017) est, en comparaison avec les résultats obtenus chez la chèvre, une plus importante multiplication de la souche vaccinale chez le bouquetin. Ainsi, l'hypothèse d'un comportement similaire vis-à-vis du vaccin OCUREV®, entre le bouquetin et la chèvre, du fait de leur proximité phylogénétique, ne suffit pas à considérer que les deux espèces vont réagir de la même façon à une vaccination contre la brucellose.

Cette incertitude rend ainsi difficile le raisonnement par analogie entre ces deux espèces.

La distribution plus large, plus intense et plus durable de la souche vaccinale REV1 dans les organes des bouquetins, associée à l'intensité plus marquée et prolongée de la réponse sérologique par rapport à la chèvre, n'est pas sans rappeler les observations faites chez le Bison

³⁰ DI50 : Dose infectieuse 50 = quantité nécessaire de bactéries pour que 50% des animaux soient infectés

et le Wapiti (Kreeger *et al.* 2002, Olsen *et al.* 2006, Olsen, Kreeger, et Palmer 2002), pour lesquels la vaccination contre *B. abortus* s'avère moins efficace que chez les bovins. Chez le cerf wapiti, la moins bonne efficacité vaccinale pourrait être attribuable à l'incapacité de cette espèce à développer une réponse cellulaire immune suffisamment robuste (Olsen, Kreeger, et Palmer 2002).

La durée d'immunité conférée par la vaccination est aussi importante à prendre en compte. Il est acquis chez la chèvre que la souche vaccinale REV.1 confère une protection significative contre une épreuve virulente (Elberg et Faunce 1957) au moins pendant une gestation après vaccination, donnée confirmée depuis par de nombreuses expérimentations, telle celle de (Fensterbank, Verger, et Grayon 1987) chez des chèvres gestantes, éprouvées par inoculation virulente 8,5 à 12,5 mois³¹ après leur vaccination à l'âge de 4 mois. Les études d'Alton (Alton 1966, 1968) ont montré chez des chèvres vaccinées par voie sous-cutanée, entre 3 et 7 mois d'âge, et exposées en cours de gestation à des avortements brucelliques (induits chez d'autres chèvres par inoculation virulente), que la protection (notamment contre les avortements) pouvait durer au moins 4,5 ans.

Il est impossible en revanche, d'en déduire une durée d'efficacité chez des bouquetins vaccinés par voie conjonctivale.

Les experts n'ont pas la possibilité de corréler les données de diffusion (distribution plus large, plus intense et plus durable de la souche vaccinale REV.1 dans les organes des bouquetins) à un quelconque statut immunologique de l'animal, car aucun indicateur (cytokine, interleukine) n'est disponible dans cette espèce pour caractériser la réponse cellulaire après vaccination chez le bouquetin.

5.2.2 A l'échelon populationnel (études de terrain)

L'absence de données chez le bouquetin oblige à nouveau les experts à raisonner par analogie, en se référant aux données acquises chez les chèvres, à la suite des campagnes de vaccination avec le vaccin REV.1, et aux enseignements des campagnes de vaccination des bisons et des wapitis, menées depuis plus de trente ans en Amérique du Nord pour lutter contre des infections par *B. abortus*.

- **Petits ruminants domestiques**

Un point à souligner est le fait que, si les études expérimentales telles que celles précédemment décrites chez la chèvre permettent d'espérer une efficacité protectrice de l'ordre de 60 à 80%, l'effet obtenu sur le terrain est bien inférieur (Beauvais, Musallam, et Guitian 2016), notamment lorsque la vaccination est pratiquée non pas sur des sujets indemnes entretenus à l'abri de toute infection, mais dans des zones où la brucellose est enzootique.

Il est cependant bien établi, chez les petits ruminants, que la vaccination par la souche REV1 confère un bon niveau de protection et a contribué grandement, notamment par la réduction des avortements, à diminuer la prévalence de la brucellose dans les pays où la maladie était enzootique et la stabiliser à un faible niveau (FAO/WHO/OIE 2009). Certaines études montrent qu'une vaccination partielle des troupeaux de petits ruminants peut avoir un impact favorable sur l'incidence à la fois chez l'animal et l'Homme (infecté au contact des ovins et caprins brucelliques). En Grèce, par exemple, (Minas *et al.* 2004) montrent que la vaccination d'au moins 30 % de la population des ovins et caprins (jeunes et adultes) permettait déjà d'observer une réduction de l'incidence de la brucellose humaine. Mais une protection adéquate n'est jugée possible que si la vaccination touche au moins 80% des animaux à risque (petits

³¹ Selon que la vaccination est par voie sous-cutanée ou par instillation conjonctivale

ruminants) (Garrido-Abellan 1992), obligeant les pays où la prévalence est élevée à recourir à une vaccination de masse (jeunes et adultes) et à la prolonger plusieurs années (par exemple, vaccinations répétées tous les 2 ans ou réalisées sur la totalité des animaux la 1^{ère} année, puis chaque année seulement sur les jeunes âgés de moins de 9 mois) (FAO/WHO/OIE 2009). Pour la brucellose à *B. melitensis*, il est estimé que 7 à 10 ans de vaccination systématique des jeunes en élevage sont nécessaires pour atteindre cet objectif de toucher une proportion suffisamment élevée d'animaux.

Néanmoins, la seule possibilité d'éradication, une fois la prévalence stabilisée à faible niveau (entre 1 et 5 %), est le dépistage et l'abattage des adultes positifs, rendu possible en limitant la vaccination aux jeunes chez lesquels la réponse sérologique, en l'absence d'infection ultérieure (justifiant l'élimination de ces animaux), est de faible amplitude et limitée à quelques mois. Quand la séroprévalence est inférieure à 2 % (préférentiellement <1 %), il devient possible d'appliquer une stratégie purement sanitaire avec interdiction de la vaccination (« test and slaughter strategy ») destinée à permettre l'éradication finale (Commission 2001).

En revanche, il n'y a pas d'exemple publié arguant d'une éradication de la brucellose obtenue sur la seule base d'une politique vaccinale dans une région où la brucellose est enzootique.

- **Espèces sauvages autres que le bouquetin**

Les résultats des campagnes de vaccination mises en œuvre chez le Bison et le Wapiti du GYP sont, en revanche, très décevants. Certes, des résultats intéressants ont pu être obtenus dans certains troupeaux de bisons (par exemple en associant vaccinations, dépistage et élimination des séropositifs et réduction des effectifs) entretenus en semi-captivité dans certains parcs d'Amérique du Nord (Nishi 2010) ; en revanche, l'assainissement des populations de bisons du GYP (chez lesquels la brucellose est connue depuis 1917) n'a pu être obtenu malgré les campagnes successives de vaccination. Les campagnes de vaccination des wapitis du GYP n'ont pas eu d'effet sur la séroprévalence et qu'un effet limité sur le taux d'avortements (Cross *et al.* 2013) et les résultats des essais réalisés *in natura* dans cette espèce ont conduit des auteurs (Boroff *et al.* 2016) à estimer qu'il y avait peu d'éléments tendant à indiquer que la poursuite du programme de vaccination conduirait à une baisse de la séroprévalence et à une diminution de la transmission inter-espèces.

Les échecs, en plus des difficultés rencontrées pour vacciner les animaux, étaient liés, en particulier chez cette espèce, à la très faible efficacité protectrice des vaccins disponibles (avec la souche S19 et, plus encore, avec la souche RB51).

Vu l'absence de données quant à l'efficacité protectrice de la vaccination chez le bouquetin, il est difficile d'estimer ses effets à l'échelon populationnel en tant que prophylaxie uniquement médicale. Cependant, les experts rappellent que l'option de gestion consistant en une unique vaccination de masse des bouquetins du massif du Barge, sans mesure sanitaire associée, a été déconseillée dès 2015 dans le rapport de l'Anses 2014-SA-0218 (Anses 2015). Dans le présent rapport, seul le recours à la vaccination en complément de mesures sanitaires est considéré.

Ainsi, la vaccination n'a été évaluée que comme une mesure complémentaire s'inscrivant dans une stratégie médico-sanitaire limitée à une partie de la population, en l'occurrence des animaux qui, après capture et s'ils sont reconnus séronégatifs, sont vaccinés et marqués avant d'être relâchés. Cependant, aucune donnée de terrain n'est disponible pour évaluer les effets d'une vaccination d'un nombre limité d'animaux sur l'évolution de la brucellose dans une population sauvage, et si certaines modélisations montrent qu'elle peut contribuer à réduire la probabilité de transmission [étude de (Hobbs *et al.* 2015)], relative à la brucellose des bisons du GYP, leurs résultats sont difficilement transposables aux bouquetins du Barge.

Deux paramètres principaux peuvent permettre de déterminer le niveau de couverture vaccinale nécessaire à la maîtrise : la transmission entre individus et le degré et la durée de protection conférés par le vaccin. En se basant sur le taux de reproduction de base R_0 (potentiel de diffusion représenté par le nombre d'animaux contaminés à partir d'un animal infecté) proche de 1, considéré par exemple chez les bisons dans le GYP (Dobson et Meagher 1996), il faudrait vacciner au moins 50% de la population. En outre la protection conférée doit être suffisamment

longue pour couvrir la période nécessaire pour capturer et vacciner le nombre requis d'animaux pour atteindre cette proportion. Or aucun de ces paramètres n'est connu chez le bouquetin.

Conclusions sur l'efficacité

L'expérimentation décrite dans l'AST 2016-SA-0146 visait à contrôler l'innocuité de la souche vaccinale chez le bouquetin, mais ne visait pas à mesurer son efficacité. L'absence de données disponibles chez le bouquetin limite l'expertise et conduit à ne pouvoir raisonner que par analogie.

Les sources documentées sont alors, d'une part les données acquises chez les chèvres, à la suite des campagnes de vaccination avec la souche vaccinale REV.1, et d'autre part les enseignements des campagnes de vaccination des bisons et des wapitis, menées en Amérique du Nord pour lutter contre des infections par *B. abortus*. Or, le rapport issu de la réévaluation des mesures de gestion dans le Greater Yellowstone Area (National Academies of Sciences et Medicine 2017), compte tenu des échecs constatés, notamment chez le Wapiti (avec les vaccins actuellement disponibles B19 et RB51), ne recommande pas la vaccination dans les scénarios de gestion de la brucellose dans ces espèces, dans l'attente de meilleurs vaccins.

La vaccination ne pourrait être évaluée que comme une mesure complémentaire s'inscrivant dans une stratégie médico-sanitaire limitée à une partie de la population. Dans ses précédents Avis, l'Anses avait déjà déconseillé les options de gestion exclusivement médicales.

Ainsi, face aux inconnues sur le niveau et la durée de protection conférés par la souche REV.1 chez les bouquetins, ainsi que sur le niveau de couverture vaccinale nécessaire, le groupe d'experts est dans l'incapacité d'évaluer l'impact réel d'une campagne de vaccination sur la circulation de l'agent pathogène au sein de la population des bouquetins du Bargy.

6 Evaluation des bénéfices et des risques liés au recours à la vaccination des bouquetins dans les scénarios de gestion de la brucellose dans le massif du Bargy

La question qui se pose ici est d'estimer l'intérêt de la vaccination des bouquetins, en tant qu'outil complémentaire dans le cadre d'une stratégie médico-sanitaire, pour la maîtrise de l'infection brucellique des bouquetins du Bargy.

Cette évaluation, effectuée sur la base des données d'innocuité et d'efficacité de l'outil vaccinal présentées dans les deux précédents chapitres, porte sur la plus-value éventuelle d'un tel programme par rapport aux scénarios de gestion sanitaire évalués dans le rapport de l'Anses 2016-SA-0229 (Anses 2017).

Conformément aux objectifs précédemment rappelés, le bénéfice à court terme recherché est une réduction accrue du nombre d'animaux infectés et/ou de la prévalence.

6.1 Rappel des scénarios sanitaires de gestion sectorisés

Les experts ont reconnu (Anses 2017) l'intérêt de prendre en compte les conclusions sur la répartition spatiale des groupes de bouquetins femelles dans le massif du Bargy et la sectorisation de la prévalence associée, fondées sur l'analyse des données recueillies dans le massif sur la période 2013-2016 et publiées par (Marchand *et al.* 2017). Deux scénarios sectorisés de maîtrise de la brucellose du bouquetin avaient été ainsi évalués.

- Le scénario, proposé en 2017 par la Préfecture de Haute-Savoie (dit « scénario préfet »), était fondé sur une gestion différenciée du foyer de brucellose selon les secteurs, déployée sur une période de deux ou trois années consécutives. Il associait l'abattage indiscriminé des bouquetins âgés de 2 ans et plus, non marqués, en zone cœur à une capture avec euthanasie sélective dans les secteurs périphériques à séroprévalence faible (Charmieux-Buclon et Leschaux-Andey) et intermédiaire (Petit Bargy).

Le groupe d'experts avait estimé que ce scénario présentait l'intérêt de tenir compte de la sectorisation de l'infection et d'appliquer les mesures de gestion les plus offensives dans les secteurs les plus infectés (visant la réduction d'un réservoir important d'infection).

Mais, compte tenu des incertitudes sur la taille des effectifs réellement présents dans les différents secteurs et sur l'épidémiologie de l'infection, les experts n'avaient pu prévoir si ces opérations conduiraient à une diminution de la séroprévalence et de la pression infectieuse sur le court terme. Ils n'étaient pas non plus en capacité de prédire si l'infection pourrait décroître à moyen-long terme, pour tendre vers une extinction.

Afin d'augmenter la probabilité de réduire la dynamique de l'infection, ils avaient néanmoins recommandé de compléter les mesures précédentes, en plaçant le secteur du Petit Bargy dans la zone cœur, en étendant l'abattage indiscriminé en zone cœur aux animaux de moins de deux ans et en maintenant la surveillance des animaux marqués sur l'ensemble des secteurs au-delà des 3 années prévues par le gestionnaire.

Comme indiqué dans le tableau 1 (récapitulant les modalités de gestion effectuées dans la population de bouquetins du massif du Bargy depuis 2012), le « scénario préfet » n'a pas été mis en place en 2017, et les opérations effectuées ont été limitées à la capture ou recapture de 27 animaux en zone cœur (avec euthanasie des sujets séropositifs) et 11 abattages indiscriminés. Ajoutées à celles de 2016, les données recueillies suite à ces opérations ont permis néanmoins de faire progresser les connaissances sur l'état sanitaire dans le massif.

- Les dernières dispositions prises (arrêté préfectoral du 8 juin 2018) prévoyaient, en 2018 :
 - la capture (associée à l'euthanasie des séropositifs) de 50 bouquetins maximum, ciblée sur des animaux marqués en vue, notamment, de constituer un noyau sain à partir des animaux marqués présents dans le massif. Il est rappelé que le marquage des animaux s'est fait progressivement depuis 2013, et les animaux séronégatifs ont été marqués avant d'être relâchés. Le ciblage pour 2018 visait donc à vérifier s'ils avaient été contaminés ou non depuis leur marquage. Le but était également d'obtenir des informations sur l'incidence de l'infection, élément important pour l'expertise ;
 - l'abattage indiscriminé en zone cœur d'un maximum de 20 animaux non marqués (donc jamais testés).

Le tableau 6 permet de présenter les différences introduites en 2018 par rapport au scénario 2017.

Tableau 6 : Comparaison des principales mesures de gestion prévues en 2017 avec celles prévues en 2018.

Secteurs du massif du Bargy	Charmieux-Buclon	Leschaux-Andey	Petit Bargy	Grand Bargy	Jallouvre-Peyre
Séroprévalence (données 2015, non corrigées)	10 %	10 %	35 %	>50 %	>50 %
« Scénario préfet » étudié dans le rapport 2017-SA-0229, prévu pour 3 ans					
- Abattage indiscriminé d'un maximum d'animaux non marqués de plus de 2 ans*				X	X
- Euthanasie sélective des animaux marqués et de ceux ayant échappé à l'abattage indiscriminé précédent				X	X
- Euthanasie sélective, quels que soient l'âge et le marquage	X	X	X		
Arrêté préfectoral 2018 (dispositions prévues pour 1 année)					
- Abattage indiscriminé d'un maximum de 20 animaux non marqués**			X	X	X
- Capture de 50 animaux avec euthanasie sélective	X	X	X	X	X

*sur une population estimée à 80 animaux hors cabris

** ciblé préférentiellement sur animaux avec signes cliniques et/ou dans des lieux ciblés en fonction de la concentration en animaux positifs

Ciblé sur animaux marqués

Le scénario 2018, conformément aux recommandations des experts [rapport 2016-SA-0229, (Anses 2017)], inclut le Petit Bargy dans la zone cœur et ne limite pas les interventions à des sujets de plus de 2 ans. Les opérations réalisées en 2018, tout en s'inscrivant dans celles initialement prévues, étaient compatibles avec les possibilités d'intervention de l'ONCFS qui estime être en capacité, malgré les difficultés croissantes rencontrées pour approcher les animaux, de réaliser une cinquantaine de captures par saison. L'accent a été mis, par ailleurs, sur la zone cœur qui est, d'une part, la plus accessible aux agents de l'ONCFS, et d'autre part, la zone la plus infectée et celle dans laquelle la population des bouquetins est la plus importante (cf. Tableau 2).

Le scénario réalisé en 2018 (cf. Tableau 1) correspond :

- en zone cœur, à la capture de 16 bouquetins (dont 5 se sont avérés séropositifs), à la recapture de 13 bouquetins (tous séronégatifs) et au tir de 5 sujets dans le secteur du Petit Bargy (tous séronégatifs) ;

- en zone périphérique, à la capture de 18 bouquetins (un seul séropositif), à la recapture d'un seul bouquetin (séronégatif).

Ce scénario réalisé est conforme à ce qui était prévu pour les captures sans toutefois atteindre son objectif en nombre d'animaux marqués recapturés, hypothéquant les possibilités de calcul d'incidence. Il est également en dessous des prévisions pour les tirs (5 au lieu des 20 prévus).

Comme l'avaient recommandé les experts (Anses 2017), chaque animal euthanasié ou abattu a fait l'objet des prélèvements nécessaires et, si cela était possible, d'une autopsie associée à des examens bactériologiques. Les données ainsi recueillies complètent celles précédemment obtenues (Lambert, Gilot-Fromont, Freycon, *et al.* 2018), pour une meilleure connaissance de l'épidémiologie de la brucellose chez le bouquetin. Mais comme déjà indiqué, les connaissances acquises n'apportent toujours pas les explications nécessaires à sa compréhension, qu'il s'agisse :

- de l'importance relative des mécanismes de la transmission, qui dépendent ou non de la densité des animaux.
- de la cinétique de l'infection chez un bouquetin infecté ;
- des mécanismes à l'origine de la sectorisation de la séroprévalence, différenciant zone cœur et zone périphérique.

En outre, certaines inconnues demeurent, comme notamment l'incidence de l'infection selon les secteurs et les périodes, ne permettant pas de conclure quant à la réalité d'une amélioration sanitaire durable.

- Bilan

Le bilan des opérations successives, entreprises depuis la découverte du foyer, est difficile à établir du fait de l'hétérogénéité des stratégies appliquées. La question est notamment de déterminer l'impact réel, sur l'évolution de la séroprévalence, de la sélection de séronégatifs pour constituer un noyau sain et des 464 abattages cumulés, pour une population estimée - hors cabris- à 567 [487-660] en 2013 et 306 [274-343] en 2017, s'agissant :

- pour 25 %, de l'euthanasie de sujets capturés et détectés séropositifs ;
- pour 75%, d'abattages indiscriminés.

Néanmoins, les données recueillies en 2018, cumulées aux résultats des suivis effectués en 2016-2017 sur les animaux capturés non marqués, semblent indiquer une tendance à la baisse de la séroprévalence apparente en zone cœur par rapport à la période 2013-2014-2015. (*cf.* Tableau 5).

Il semble d'après les communications personnelles issues des auditions, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués (très peu souvent recapturés) et chez les animaux non marqués ; et à la fois en zone cœur et (au moins en tendance) en zone périphérique.

Selon les auteurs de l'analyse des données en cours, le taux de séroprévalence global en zone cœur sur la période 2016-2018, corrigé pour prendre en compte l'ensemble des animaux marqués (40%) et non marqués (60%), est estimée à 20,6% (tableau 5).

- L'audition de l'ONCFS en charge de ces opérations, laisse présumer la poursuite du même protocole d'action en 2019, ce qui est évalué comme pertinent par les experts qui soulignent l'importance de privilégier la capture d'animaux marqués, afin de disposer d'éléments permettant de définir l'incidence de la brucellose dans la population. Cette connaissance est cruciale pour établir si la baisse de la séroprévalence constatée peut être durable et pour vérifier s'il n'y a pas de relance de l'infection, qui pourrait être associée à une reprise de la dynamique de la population.

6.2 Evaluation de l'apport de la vaccination dans la stratégie actuelle de lutte contre la brucellose du bouquetin

6.2.1 Scénario envisagé pour un ajout éventuel de la vaccination

Rappelons que la zone cœur est à la fois la zone la plus infectée et la plus peuplée (population, hors cabris, estimée en 2017, les chiffres 2018 n'étant pas disponibles, à environ 90 femelles, contre une cinquantaine dans les secteurs périphériques, auxquels s'ajoutent environ 130 mâles répartis sur l'ensemble des secteurs). Il est donc raisonnable de tenir compte de la stratégie déjà engagée, qui privilégie les actions sanitaires en zone cœur, et de recommander de limiter à cette zone l'éventualité d'une vaccination.

Deux options sont donc envisageables en zone cœur :

- La première revient à poursuivre la stratégie sanitaire déjà engagée (euthanasie sélective visant à constituer un noyau sain, y compris en recapturant des animaux marqués, associée à un abattage indiscriminé des animaux les moins accessibles) tout en mesurant les effets. Il est important en effet de confirmer si cette stratégie est suffisante pour réduire la séroprévalence et la stabiliser à un faible niveau, compatible avec l'objectif de gestion du risque précédemment défini.
- La seconde revient à compléter la précédente par une composante médicale.

Dans cette seconde option, comme déjà indiqué, la vaccination doit être considérée uniquement comme un complément de la stratégie sanitaire déjà engagée, et s'adresse donc exclusivement aux bouquetins concernés par la stratégie d'euthanasie sélective, étant admis que tout bouquetin (non vacciné) séropositif doit être éliminé. Les campagnes successives devraient aboutir à créer un noyau d'animaux vaccinés qui se substituerait et/ou s'ajouterait progressivement au noyau des animaux testés séronégatifs, lors des campagnes de captures antérieures. Dans cette optique, la traçabilité de la vaccination est impérative, nécessitant un marquage spécifique des sujets vaccinés, distinct du marquage déjà réalisé pour identifier les animaux déjà capturés et relâchés (sans être vaccinés) après avoir été reconnus séronégatifs. Ce marquage spécifique permettra une gestion différenciée de ces animaux vaccinés.

6.2.2 Eléments sur la sécurité du vaccin : discussion.

Il convient de souligner que l'évaluation du risque lié à la vaccination des bouquetins dans le massif du Bargy, se place dans le contexte d'une zone infectée par une souche sauvage de *Brucella melitensis*, avec une séroprévalence élevée (estimée encore à 20% en zone cœur). Dans ce contexte d'analyse de risque, le niveau de risque acceptable³² auquel va être comparé le risque estimé lié à la vaccination des bouquetins, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'amélioration de la situation sanitaire chez les bouquetins.

Plusieurs informations résultent de l'expérimentation vaccinale réalisée chez le bouquetin, considérant notamment sa sensibilité, plus importante que celle de la chèvre, au vaccin OCUREV® administré par instillation conjonctivale à la dose de 1-2 10⁹ UFC.

6.2.2.1 Effets sur le bouquetin

- **Risque abortif**

Les résultats de l'expérimentation vaccinale chez le bouquetin laissent présager un risque abortif élevé en cas d'administration vaccinale à des femelles gestantes.

³² L'évaluation de risque est une étape de la gestion du risque qui consiste à comparer un risque estimé (par l'expertise) à un niveau de risque acceptable (fixé par le gestionnaire). On entend par risque acceptable, le niveau de risque jugé compatible avec la santé, compte tenu d'un ensemble de données épidémiologiques, sociales et économiques. (Afssa 2008)

Le risque d'avortement, reconnu également chez les animaux domestiques, est à l'origine de la contre-indication énoncée dans le RCP des vaccins anti-brucelliques chez les femelles gestantes.

Il convient de discuter ici les conséquences de ce risque abortif, dans le contexte de la brucellose du massif du Bargy :

- Ce risque abortif est à évaluer dans le contexte existant du risque d'avortement lié à la souche sauvage. Ainsi, tant que le niveau d'infection par la souche sauvage demeure élevé dans le massif du Bargy, ce risque lié à la vaccination serait en comparaison faible ou négligeable.
- Dans un contexte d'amélioration de la situation sanitaire dans la population de bouquetins, le risque d'avortement des étagnes lié au vaccin deviendrait supérieur au risque pour ces étagnes d'avorter à cause d'une infection naturelle. Le risque abortif pourrait alors éventuellement constituer une contre-indication, notamment si ces avortements d'origine vaccinale ont un impact sur la dynamique de la population. L'impact de ces avortements vaccinaux sur la dynamique de la population de bouquetins ne peut être estimé (il convient de noter que les abattages indiscriminés et les euthanasies sélectives peuvent aussi avoir un impact sur la dynamique). Néanmoins, comme indiqué au chapitre 4.1.1, les données disponibles pour d'autres espèces, et/ou pour d'autres *Brucella*, indiquent que la brucellose n'a pas, *in fine*, d'impact sur les populations de ruminants sauvages. En revanche, il n'est pas impossible que la brucellose ralentisse le phénomène de reconstitution d'une population après une chute importante de sa démographie. Tout au plus, le risque abortif lié à la vaccination pourrait-il donc avoir un effet comparable à l'infection elle-même, à savoir un éventuel retard dans la reconstitution de la population après les opérations d'abattage.

Il revient au gestionnaire de décider s'il considère le risque abortif comme négligeable au regard de son objectif, qui est de diminuer la séroprévalence de l'infection à un niveau permettant, à la fois, d'escompter à terme, une extinction naturelle de la maladie et de réduire encore, pour l'amener à zéro, le risque de transmission aux cheptels domestiques.

Si le risque était considéré comme inacceptable il conviendrait d'appliquer les recommandations du RCP du vaccin pour les femelles domestiques et d'écarter de la vaccination les femelles à risque d'avortement. Si au contraire le risque était considéré comme négligeable au regard des objectifs de gestion, alors les femelles gestantes séronégatives pourraient être vaccinées.

La période la plus propice (accessibilité des animaux) à la capture des bouquetins se situe au printemps, donc en fin de période de gestation. Des éléments bibliographiques existent pour considérer que la vaccination par instillation conjonctivale, durant les derniers mois de gestation, minimise le risque d'avortements (au moins chez le mouton, Jiménez de Bagués et al, 1989). Cependant, il n'existe pas de connaissance scientifique de cette nature pour le bouquetin et, comme indiqué précédemment, il est délicat de raisonner par analogie, notamment en raison des fortes charges bactériennes observées après vaccination. On ne peut donc assurer que vacciner par voie conjonctivale les femelles bouquetins dans le dernier tiers de gestation peut permettre de réduire la probabilité d'avortement.

En outre, un diagnostic de gestation *in situ* n'est guère, en pratique, envisageable : il n'existe pas de test rapide de type « bandelette » utilisable chez le bouquetin à ce jour³³ ; seul l'échographe portable est envisageable mais requiert un opérateur spécialisé, muni d'un matériel spécifique, adapté au pelage des animaux.

En conséquence, dans l'hypothèse d'une non-vaccination des femelles gestantes, les femelles en âge de se reproduire capturées au printemps et testées comme séronégatives seraient libérées sans être vaccinées. Une autre possibilité consisterait à réaliser les

³³ Un test rapide de gestation est disponible pour les espèces bovine, ovine, caprine.

captures et la vaccination des femelles en automne, nonobstant la plus grande difficulté des captures à cette période. Mais quelle que soit la période de capture, une contre-indication de vaccination pour les femelles gestantes réduirait le nombre d'animaux vaccinés, soit en éliminant certains du protocole de vaccination, soit en réduisant les possibilités de capture.

- **Risque de persistance de la souche vaccinale chez le bouquetin**

Comme indiqué précédemment, les résultats expérimentaux relatifs à l'élimination de la souche vaccinale par les bouquetins (Ponsart *et al.* 2018), conduisent à s'interroger sur l'éventualité de la persistance de la souche vaccinale au-delà des 90 jours de l'expérimentation, voire toute la vie de l'animal. Ceci aurait des conséquences déjà exposées au point 5.1.1.1, en matière d'avortement pour les gestations ultérieures, voire en termes de chronicité de l'infection.

Compte tenu de cette incertitude au-delà des 90 jours d'expérimentation, l'interprétation des experts du GT sur le long terme diffère :

- Pour un expert, ces éléments couplés aux données de la littérature relatives à la virulence et à la pathogénicité des *Brucella* sauvages et vaccinales, permettent de conclure qu'il est hautement probable que la souche va persister longtemps chez le bouquetin vacciné, peut-être toute la vie de l'animal.
- Pour les autres experts, si l'expérimentation vaccinale sur le bouquetin citée ci-dessus, suggère que la souche vaccinale est susceptible de persister longtemps chez le bouquetin vacciné, il reste que cette expérience est unique dans ce domaine, et le devenir de la souche vaccinale au-delà de 90 jours post-vaccination demeure inconnu dans cette espèce.

6.2.2.2 Effet sur l'excrétion de la souche vaccinale

Les résultats de l'expérimentation vaccinale chez le bouquetin laissent présager une probabilité accrue chez le bouquetin, par rapport à la chèvre, d'excrétion de la souche vaccinale dans l'environnement. Ce phénomène a des conséquences en termes de risque de diffusion, voire d'entretien de la circulation de la souche vaccinale, au sein de la population des bouquetins du Bargy, mais également en termes de risque de transmission de cette souche vaccinale à d'autres espèces animales, notamment domestiques.

Il convient de discuter aussi les conséquences de ce risque d'excrétion de la souche vaccinale, dans le contexte de la brucellose du massif du Bargy.

- **Risque pour la population de bouquetins**

Pour la population de bouquetins, l'excrétion de la souche vaccinale par des animaux vaccinés aurait pour conséquence la transmission de cette souche à d'autres bouquetins non vaccinés (infectés ou non par la souche sauvage). Cette transmission aurait pour principale conséquence, chez les animaux non infectés par la souche sauvage (et donc séronégatifs), un risque d'avortement pour les femelles contacts et un risque de transmission vénérienne par les mâles contacts, plus ou moins durable selon la persistance de la souche chez les animaux. Elle aurait aussi pour conséquence la séroconversion de ces animaux, comme développé au point 6.2.2.3.

Ce risque d'excrétion de la souche vaccinale dans l'environnement est à évaluer dans le contexte existant de la circulation de la souche sauvage. Ainsi, tant que le niveau de circulation de la souche sauvage demeure élevé dans le massif du Bargy, ce risque d'excrétion de la souche vaccinale serait, en comparaison, faible ou négligeable. Si en revanche, la situation sanitaire s'améliorait, avec une baisse de la circulation de la souche sauvage, l'évaluation de ce risque serait différente.

Dans la pire des situations, au fur et à mesure de la vaccination des bouquetins et du fait d'une éventuelle diffusion dans la population *via* l'excrétion de la souche vaccinale, et si cette dernière persiste longtemps chez les animaux, la souche sauvage de *Brucella* pourrait, très hypothétiquement, coexister avec la souche vaccinale dans la population des bouquetins.

- **Risque pour les cheptels domestiques**

Comme indiqué au point 4.1.3, la probabilité de transmission de la brucellose des bouquetins aux cheptels de ruminants domestiques avait été estimée dans l'avis 2014-SA-0218 (Anses 2015) comme « quasi-nulle » à « minime » (1-2 sur une échelle ordinale de 0 à 9). Cette probabilité résulte de la prise en compte de deux probabilités élémentaires : celle de l'émission de l'agent pathogène par les bouquetins (qui dépend de la prévalence de l'infection) et celle de l'exposition des animaux domestiques aux bouquetins infectés (qui dépend de l'ampleur de la cohabitation entre les deux populations).

Dans l'hypothèse où la vaccination des bouquetins conduirait à l'excrétion d'une souche vaccinale, voire au remplacement progressif de la souche sauvage par la souche vaccinale, la probabilité de transmission de cette souche vaccinale des bouquetins aux cheptels domestiques dépendrait également de la probabilité d'émission et de la probabilité de contacts et ne serait pas supérieure à celle estimée aujourd'hui avec la brucellose sauvage. En outre, les conséquences sanitaires seraient plus limitées. Les conséquences principales seraient liées à la séroconversion de ruminants domestiques qui interviendrait alors, et qui interférerait dans le dépistage des cheptels. Toutefois le recours à l'abattage diagnostic des animaux séropositifs, associé à l'isolement et la caractérisation de la souche³⁴, permettrait de révéler que la séropositivité est associée à la souche Rev.1, et donc de limiter l'abattage aux seuls animaux séropositifs, et ainsi d'éviter l'abattage total du troupeau.

Le risque pour l'Homme, quant à lui, ne serait pas augmenté par une diffusion de la souche vaccinale de *Brucella* en remplacement de la souche sauvage. Le risque lié à la manipulation du vaccin est quant à lui évalué au point 7.2.2.

6.2.2.3 Effet sur la surveillance sanitaire de la population de bouquetins

Les résultats de l'expérimentation vaccinale chez le bouquetin laissent présager une réponse sérologique post-vaccinale accrue chez le bouquetin, par rapport à la chèvre, tant en amplitude qu'en durée.

L'importance de la séroconversion post-vaccinale chez les bouquetins, probablement liée à la fois à l'espèce et à une vaccination réalisée sur des animaux adultes, conduirait à réduire les possibilités de surveillance sérologique de la population de bouquetins, du fait de l'impossibilité de distinguer les anticorps post-infectieux des anticorps post-vaccinaux.

Il convient de rappeler que les modalités de capture, telles qu'envisagées actuellement, ne permettent pas de capturer les animaux avant l'âge de 1 à 2 ans, excluant la possibilité d'une vaccination limitée aux bouquetins impubères, chez lesquels on aurait pu espérer une séroconversion limitée en intensité comme en durée, à l'image de ce qui est observé chez les ruminants domestiques.

Cette situation compromet le suivi de l'infection dans le massif pour les raisons suivantes :

- la recapture des bouquetins vaccinés (marqués spécifiquement), en nombre croissant, deviendrait inutile sur le plan de la surveillance, car cela ne permettrait pas de suivre l'évolution de l'infection par la souche sauvage, sauf à euthanasier les séropositifs et les étudier pour savoir si cette séropositivité est due à la vaccination ou à l'infection ... ce qui serait un non-sens au regard des efforts qui auraient été consentis pour capturer ces animaux et les vacciner ;
- le suivi de la séoprévalence sur le reste de la population serait « brouillé » par la présence possible d'animaux contacts séropositifs non vaccinés, mais infectés par la souche vaccinale, du fait de son excrétion dans l'environnement, ou par contact direct entre bouquetins. Ce phénomène de contamination d'animaux contacts a été mis en évidence, mais dans des conditions de confinement et de stress n'ayant rien à voir avec le milieu naturel. Il est donc peu probable que ce phénomène soit aussi important en milieu naturel.

³⁴ La souche Rev.1 est phénotypiquement différenciable de la souche sauvage. Elle peut être aussi caractérisée par PCR.

Toutefois, cette possibilité de transmission introduit une incertitude sur l'origine de la réponse sérologique des animaux qui s'avèreraient séropositifs. Il serait intéressant, s'ils étaient euthanasiés, de mener les recherches pour identifier l'origine de cette séroconversion (caractérisation *a posteriori* de la souche de *Brucella* en cause permettant de distinguer la souche vaccinale de la souche sauvage).

Mais cette situation conduirait à augmenter d'autant le nombre total de captures, dans le but d'atteindre un niveau de surveillance suffisant, pour suivre l'évolution de la séroprévalence au cours du temps et ainsi vérifier si les mesures adoptées portent leurs fruits.

La mise en place d'une vaccination aurait donc un impact négatif important sur la surveillance sanitaire de la population de bouquetins, dans le contexte des modalités de capture actuellement pratiquées sur le massif du Bargy.

6.2.3 Eléments sur l'efficacité du vaccin. Discussion.

L'absence totale de données sur le bouquetin en matière d'efficacité du vaccin OCUREV® conduit les experts à souligner l'impossibilité de prédire le niveau et la durée de protection conférés par cette souche dans cette espèce, ainsi que la proportion d'animaux vaccinés à atteindre, pour satisfaire les objectifs de lutte énoncés.

- **Niveau de protection**

Les experts sont dans l'incapacité de définir les niveaux de protection permettant de prévenir l'infection par la souche sauvage de *B. melitensis* et de réduire son excrétion.

Les deux sources bibliographiques disponibles, relatives d'une part à la chèvre en élevage et d'autre part aux bisons et wapitis, exposés à *B. abortus* dans le parc du Grand Yellowstone aux Etats-Unis, ne sont pas concordantes entre elles, quant à un éventuel niveau de protection. Pour la chèvre, le niveau de protection est connu ; pour le Bison et surtout pour le Wapiti chez lequel aucun vaccin (souches S19 ou RB 51) n'est reconnu efficace, le rapport issu de la réévaluation des mesures de gestion dans le Greater Yellowstone Area (National Academies of Sciences et Medicine 2017), ne recommande pas la vaccination dans les scénarios de gestion de la brucellose dans ces espèces, dans l'attente de meilleurs vaccins.

En l'absence de données chez l'espèce cible, le Groupe de Travail souligne l'importance de l'incertitude en ce qui concerne les données d'efficacité du vaccin chez le bouquetin. Dans ce contexte d'incertitude, l'approche des experts du GT diffère quant aux extrapolations envisageables à partir d'autres espèces :

- Pour la majorité du GT (tous les experts à l'exception d'un), la distance phylogénétique entre l'espèce sur laquelle on souhaite employer le vaccin et l'espèce-cible de l'AMM du vaccin (i.e. la chèvre) est importante à prendre en compte dans la présente approche, visant à évaluer l'usage de ce vaccin chez les bouquetins, selon le principe de la « cascade ». A ce titre, la grande proximité phylogénétique (Pidancier *et al.* 2006) entre chèvre et bouquetin a guidé les experts depuis 2014 dans leurs travaux relatifs à la vaccination des bouquetins, notamment pour le protocole de l'expérimentation vaccinale. Il demeure que les résultats de cette expérimentation incitent néanmoins à la prudence vis-à-vis du principe d'extrapolation. Les échecs enregistrés dans le Greater Yellowstone Area incitent également à la prudence dans l'extrapolation, même s'il s'agit d'espèces animales, de *Brucella* et de vaccins distincts par rapport à la situation du bouquetin du Bargy.
- Pour un expert, l'extrapolation à partir de la seule espèce cible de l'AMM ne paraît pas pertinente car c'est le couple espèce cible – agent pathogène qui est pertinent vu la pathogénicité et les facteurs de virulence communs à toutes les espèces de *Brucella* « smooth » et la pathologie similaire induite par les espèces de *Brucella* « smooth » chez leur(s) espèce(s) cible(s) préférentielle(s). A ce titre, il convient de constater que les bénéfices de la vaccination pour les espèces domestiques (pour les vaccins S19 et RB51) utilisés pour le couple bovin-*B. abortus* n'ont pas été confirmés chez les espèces sauvages pour les couples bison-*B. abortus* et wapiti-*B. abortus* dans le parc du Yellowstone. Dès lors, il est fondé de suivre l'absence de recommandation de la vaccination telle que

formulée par les experts dans le rapport cité ci-dessus (National Academies of Sciences et Medicine 2017).

- **Durée de protection**

L'absence totale de données sur la durée de protection induite par le vaccin chez le bouquetin, ne permet pas au Groupe de Travail de se prononcer sur une durée minimale du protocole de vaccination, ni de définir si des campagnes de revaccination sont nécessaires pour prolonger la protection dans le temps. En effet, à la différence des animaux domestiques, les bouquetins peuvent avoir une durée de vie longue (une quinzaine d'années). Là encore les extrapolations à partir de données sur animaux domestiques sont particulièrement difficiles.

- **Couverture vaccinale**

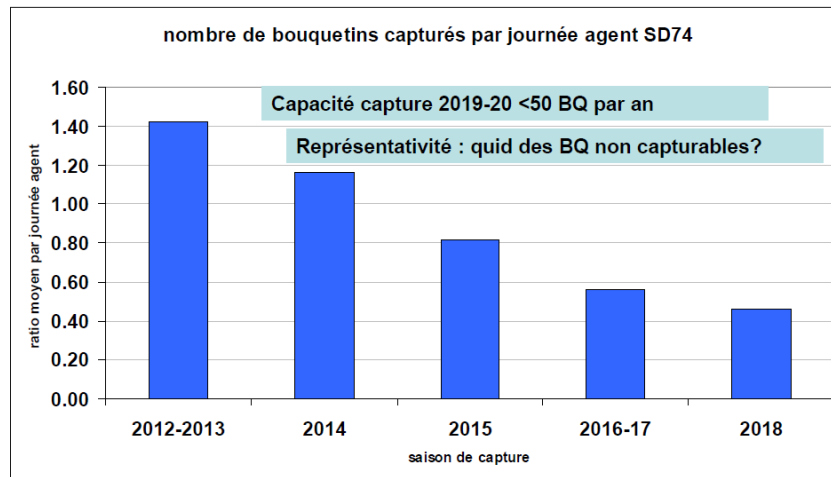
Le niveau de couverture vaccinale est fonction de la transmissibilité de l'infection entre bouquetins et de l'efficacité de la vaccination : deux éléments inconnus dans cette espèce. Une nouvelle fois, les extrapolations à partir de données chez les animaux domestiques sont très difficiles. Il est donc impossible de chiffrer une proportion d'animaux vaccinés à atteindre.

Comme indiqué au point 5.1.2.1, il est impossible de répondre à cette question.

Le nombre de captures réalisables chaque année dépend, d'une part, des moyens et modalités mis en œuvre, et d'autre part de l'accessibilité des bouquetins, rendue de plus en plus difficile, notamment lorsqu'il s'agit de recaptures. Ainsi, avec les moyens actuels, et sur la période de capture habituelle (d'une durée de 2,5 mois au printemps), la capacité de capture et recapture est estimée par les agents de l'ONCFS au plus à 40-50 bouquetins par an, étant précisé que le nombre de bouquetins capturés par journée et par agent (service départemental de l'ONCFS) se réduit d'année en année (figure 8), les animaux devenant de plus en plus difficiles à approcher et certains restant inaccessibles au fil des années. Ces difficultés sont associées à un risque accru d'accidents chez les agents chargés de réaliser les captures.

A titre d'exemple théorique, en tenant compte du taux de capture en zone cœur (45 individus, soit de l'ordre de 25%), du taux de séroprévalence (de l'ordre de 20%, correspondant aux individus euthanasiés) et de l'éviction éventuelle des femelles gestantes (en supposant un dépistage de gestation réalisable : 50 à 60% des femelles), du renouvellement des effectifs par les naissances (pour un indice de reproduction de 0,4), la part des animaux vaccinés s'élèverait annuellement à 10-15 % des bouquetins, pour atteindre jusqu'à 20 % en vaccinant les gestantes. Même sans connaître le niveau de couverture vaccinale optimal, ce taux apparaît probablement insuffisant pour pouvoir appliquer une stratégie uniquement médicale. L'augmentation du nombre annuel d'animaux vaccinés nécessiterait le recours à d'autres modalités de capture. En effet, d'autres techniques de capture sont pratiquées dans certains pays sur le bouquetin (cage-piège, lacets à patte, filets tombants ou relevants), mais leur mise en place dans le massif du Barging nécessiterait un temps d'apprentissage et d'adaptation.

Figure 8 : Evolution de la capacité de capture des bouquetins au cours du temps, dans le massif du Barging. Source : Sophie Rossi, ONCFS.



Au-delà de la difficulté croissante des opérations de capture, s'ajoute enfin la nécessité de prévoir un engagement des moyens dans la durée, tant pour la vaccination que pour la surveillance.

A noter qu'en raison du faible nombre de bouquetins dénombrés dans chaque secteur du Bargy et des difficultés de capture, il devient de plus en plus difficile d'obtenir un échantillonnage représentatif et suffisant pour estimer les variations significatives de prévalence et d'incidence.

L'ensemble de ces éléments de discussion conduit les experts à proposer les réponses suivantes aux questions de la saisine (chapitre 7).

7 Réponses aux questions de la saisine

Le dossier de la brucellose des bouquetins du Bargy est caractérisé par une situation sans précédent, pour ce qui concerne l'espèce bouquetin et l'infection à *Brucella melitensis*, et par une disponibilité des connaissances scientifiques à la fois peu étendue et évolutive au cours du temps.

De nombreuses connaissances existent sur la brucellose et sur la vaccination contre *B. melitensis*, avec la souche REV.1 mais elles concernent les ruminants domestiques (et notamment la chèvre). Des expériences de vaccination sont également documentées dans d'autres espèces sauvages, (Bison, Wapiti), qui portent sur une autre espèce de *Brucella* : *B. abortus*, avec d'autres vaccins (National Academies of Sciences et Medicine 2017).

Face à ce manque de connaissances vis-à-vis de l'espèce bouquetin en matière de lutte contre la brucellose à *B. melitensis*, les experts ont néanmoins cherché à apporter des réponses, destinées à venir en appui aux décisions du gestionnaire, mais ils soulignent les incertitudes importantes, inhérentes à l'absence de documentation ciblée sur le bouquetin. L'ensemble de ces incertitudes est rappelé en annexe 6.

Ces incertitudes ont notamment conduit les experts, en l'absence de données scientifiques sur le bouquetin, à exprimer leur « avis d'expert ». Celui-ci s'est avéré, sur certains points, non totalement convergent (cf 6.2.2 et 6.2.3).

De ce fait, un expert a souhaité exprimer des réponses aux questions de la saisine, différentes du reste du Groupe de Travail. Celles-ci sont reprises intégralement en Annexe 2.

Les paragraphes 7.1 et 7.2 ci-dessous sont donc l'expression des experts du GT à l'exception de l'un d'entre eux (voir sa position divergente en Annexe 2).

En outre, l'évolution au cours du temps des connaissances sur le massif du Bargy, ne permet pas de rendre accessibles à tout moment, les dernières données acquises pour l'évaluation des risques et des mesures de gestion. Ce décalage dans le temps entre acquisition de données et évaluation, ajoute une source d'incertitude au moment de l'expertise.

7.1 Question 1

« En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ? »

L'analyse des questions de la saisine a conduit les experts, afin d'éviter le plus possible les redites d'une question à l'autre, à traiter principalement la question de l'efficacité de la vaccination dans le cadre de la question 1 et à aborder l'innocuité et le rapport bénéfice/risque de la vaccination dans la question 2.

Le libellé de cette question nécessite de rappeler certains points de vigilance, développés dans les chapitres précédents du présent rapport :

7.1.1 Objectif des mesures de gestion

Il a déjà été souligné et argumenté, dans les avis précédents, qu'un objectif d'éradication à court terme de la brucellose chez les bouquetins était inatteignable (cf. chapitre 2).

Par conséquent les experts considèrent comme réaliste la recherche d'un contrôle (maîtrise) de l'infection dans la population des bouquetins par réduction de la prévalence et/ou du nombre d'animaux infectés, en vue (1) de diminuer la probabilité de contact direct ou indirect des animaux domestiques avec un bouquetin infecté et (2) d'atteindre un niveau d'infection permettant

d'augmenter la probabilité d'obtenir une extinction naturelle de l'infection en contribuant à réduire l'incidence. C'est cet objectif qui a sous-tendu les travaux des experts.

Dans ce contexte, un des objectifs de la vaccination est bien de contribuer à réduire l'incidence de la maladie chez le bouquetin, même s'il existe de nombreuses incertitudes relatives à l'efficacité.

7.1.2 Apport de l'étude vaccinale

L'étude vaccinale (Ponsart *et al.* 2017) avait pour objectif de comparer le niveau d'innocuité du vaccin OCUREV® chez le bouquetin et la chèvre (voir question 2). Elle n'avait pas pour objectif de mesurer l'efficacité de ce vaccin chez le bouquetin, dans la mesure où aucune épreuve virulente n'a été mise en œuvre (cf. 5.2.1).

Dès lors, les experts ne peuvent apporter d'éléments scientifiques relatifs à l'efficacité du vaccin.

7.1.3 Scénario de gestion

Les experts ont rappelé (cf. 5.2.2) que l'option de gestion consistant en une unique vaccination de masse des bouquetins du massif du Bary, sans mesure sanitaire associée, a été déconseillée par l'Anses dès 2015 (Anses 2015). Ainsi, dans le présent rapport, le recours à la vaccination n'est évalué qu'en ajout à des scénarios de gestion sanitaires.

Pour évaluer l'impact de ce complément, les experts ont pris pour base les scénarios évalués dans le précédent rapport (Anses 2017), qui tenait compte de la spatialisation de l'infection. En outre la vaccination et l'évaluation de son apport n'ont été envisagés qu'en zone cœur, cette zone étant à la fois la plus peuplée et la plus infectée par la brucellose (cf. 6.2.1).

Ainsi, le scénario de base considéré est le suivant : euthanasie sélective (capture, test sérologique, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs), visant à constituer un noyau sain, associée à un abattage indiscriminé des animaux les moins accessibles, le tout en zone cœur.

La vaccination des animaux capturés et trouvés séronégatifs, avant de les marquer spécifiquement et de les relâcher, s'ajouterait à ce scénario. Les campagnes de vaccination devraient alors aboutir à créer un noyau d'animaux vaccinés, qui se substituerait et/ou s'ajouterait progressivement au noyau des animaux testés séronégatifs, lors des campagnes de captures antérieures, en vue d'accélérer la baisse de la prévalence de l'infection, par rapport à un scénario exclusivement sanitaire.

7.1.4 Modalités possibles de déploiement de la vaccination

Dans le contexte du scénario *supra*, le déploiement de la vaccination dépend à la fois de la faisabilité des captures (par téléanesthésie) dans la zone cœur du massif du Bary et des contraintes liées au vaccin.

La vaccination des bouquetins ne peut être effectuée que sur des animaux capturés. Le nombre d'animaux vaccinés sera fonction du nombre d'animaux capturés et identifiés séronégatifs au test rapide. Il apparaît qu'aujourd'hui, avec les moyens actuels et sur la période de capture habituelle (d'une durée de 2,5 mois au printemps), la capacité de capture & recapture est estimée par les agents de l'ONCFS au plus à 40-50 bouquetins par an, cette capacité diminuant depuis le début des opérations dans le massif (cf. 6.2.3). D'autres techniques de capture sont pratiquées sur le bouquetin dans d'autres pays, mais leur mise en place dans le massif nécessiterait un temps d'apprentissage et d'adaptation.

La vaccination ayant une forte probabilité d'entraîner des avortements (cf. 5.1.1.1), la question est de savoir s'il serait ou non décidé d'écarter de la vaccination les femelles bouquetins à risque d'avortement. Dans un cas, tous les animaux capturés trouvés séronégatifs pourraient être vaccinés. Dans l'autre cas, si les captures ont lieu au printemps, il conviendrait d'écarter de la vaccination les femelles en âge d'être gestantes (pas de test de gestation réalisable *in situ*, en pratique chez le bouquetin aujourd'hui). La vaccination de ces femelles pourrait être reportée à l'automne (période moins propice aux captures).

7.1.5 Conclusions

Compte tenu de ces éléments de précision, les experts concluent qu'en l'absence de données sur l'efficacité du vaccin chez le bouquetin, il n'est pas possible d'estimer la probabilité d'atteindre l'objectif fixé d'extinction de la brucellose dans le massif du Bargy, en complétant, par la vaccination des animaux séronégatifs, le scénario sanitaire en zone cœur précité.

Compte tenu des taux de captures permis par les moyens utilisés actuellement, la proportion d'animaux vaccinés dans la zone cœur pourrait atteindre annuellement 10-15% (sans vacciner les femelles gestantes) et jusqu'à 20 % (en vaccinant les gestantes) (cf. 6.2.3). Ces chiffres restent très loin d'un niveau de couverture vaccinale suffisant, tel qu'il a été montré pour les animaux domestiques (même s'il n'est pas précisément connu) et conduisent à devoir envisager des opérations de vaccination sur plusieurs années et en faisant appel à d'autres modalités de captures (alternatives pour animaux méfiants, augmentation du nombre d'animaux capturés, ...).

A ce titre, les travaux en cours sur la modélisation de la brucellose dans la population de bouquetins du Bargy, intégrant les données de spatialisation de l'infection, pourraient apporter des éléments utiles sur le plan opérationnel.

Voir réponse à la question 1 divergente en Annexe 2

7.2 Question 2

« Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué? »

Le chapitre 6 du rapport a présenté l'analyse des risques et des bénéfices de la vaccination comme complément à un scénario de lutte sanitaire dans le massif du Bargy.

7.2.1 Contexte spécifique de cette vaccination

En ce qui concerne les risques, il convient de souligner que cette analyse se place dans le contexte d'une infection de la population des bouquetins par une souche sauvage de *B. melitensis*. L'objectif est d'en obtenir l'extinction pour des raisons sanitaires réglementaires (conserver le statut indemne de la France en prouvant la maîtrise et l'extinction du foyer) et de santé publique. Ainsi, la notion de risque lié à la vaccination de la population de bouquetins ne s'apprécie pas forcément de la même manière, selon que l'on prend en compte cet objectif en priorité, ou non.

Par ailleurs, ce contexte d'infection de la population de bouquetins par une souche sauvage relativise le risque lié à la vaccination. Le niveau de risque acceptable auquel va être comparé le risque estimé lié à la vaccination des bouquetins, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. On voit donc que ce niveau de risque acceptable a un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'amélioration de la situation sanitaire chez les bouquetins.

7.2.2 Evaluation des risques

- Le risque abortif du vaccin OCUREV® chez les femelles bouquetins peut être élevé au plan individuel, mais son impact serait probablement mineur sur la dynamique de population des bouquetins. Ce risque abortif est à évaluer dans le contexte existant du risque d'avortement lié à la souche sauvage ;
- Le risque d'excrétion de la souche vaccinale dans l'environnement est à évaluer dans le contexte existant de la circulation de la souche sauvage. Ainsi, tant que le niveau de circulation de la souche sauvage demeure élevé dans le massif du Bargy, ce risque d'excrétion de la souche vaccinale serait, en comparaison, faible ou négligeable. Si en revanche, la situation sanitaire s'améliorait, avec une baisse de la circulation de la souche sauvage, l'évaluation de ce risque serait différente.

- Le risque de persistance de la souche vaccinale, avec les conséquences que cela implique chez les bouquetins n'a pu être estimé par les experts, en l'absence de données au-delà des 90 jours d'expérimentation. Ceci constitue une incertitude pour la présente évaluation.
- Le risque de persistance de la réponse sérologique post-vaccinale chez les bouquetins vaccinés, mais aussi potentiellement chez les bouquetins contacts, compromet le suivi sérologique de l'infection dans le massif du Bargy.
Cet impact sur la surveillance sanitaire de la population de bouquetins a été considéré par les experts comme non négligeable. En effet, le fait d'exclure les animaux vaccinés de la surveillance et de capturer inutilement des animaux contacts positifs, du fait de la souche vaccinale, conduit à augmenter les efforts de capture dans le but d'atteindre un niveau de surveillance suffisant de la circulation de la souche sauvage. Cela peut rapidement représenter une difficulté, dans le contexte des modalités de capture pratiquées actuellement dans le massif du Bargy.
- Concernant le risque de transmission à d'autres espèces sauvages, notamment les chamois qui sont en sympatrie avec les bouquetins, on notera que, bien que très sensibles à la souche sauvage, très peu ont été infectés jusqu'ici, comme l'attestent les suivis d'animaux chassés dans le massif du Bargy. Ce risque de transmission par les bouquetins vaccinés ne devrait pas être supérieur à celui de la souche sauvage de *B. melitensis* biotype 3 ;
- Le risque de transmission aux ruminants domestiques, y compris pour les bovins, n'est pas supérieur à celui envisagé pour la souche sauvage, évalué comme « quasi-nul » à « minime » (1-2 sur une échelle de 0 à 9). En outre, les conséquences sanitaires seraient plus limitées. Elles seraient liées à la séroconversion qui interviendrait alors, et qui interférerait dans le dépistage des cheptels. L'isolement et la caractérisation de la souche REV.1 devraient conduire à limiter l'abattage sanitaire aux seuls animaux séropositifs.
- La souche REV.1 peut être une cause de brucellose humaine. L'infection humaine intervient le plus souvent à la suite d'inoculation ou projection conjonctivale accidentelle lors de la vaccination. Elle peut aussi survenir à la suite de la manipulation de viscères d'animaux vaccinés. Le risque ajouté, par rapport au risque de contamination par la souche sauvage, peut concerner les agents chargés de l'instillation conjonctivale de la suspension vaccinale aux bouquetins capturés. Il peut être fortement réduit par l'application des mesures de protection individuelle comme le port de gants et lunettes.

7.2.3 Evaluation des bénéfices

En ce qui concerne les bénéfices, il convient de rappeler :

- L'absence de données sur le bouquetin en matière d'efficacité du vaccin OCUREV®, tant pour le niveau de protection atteint, la durée de cette protection que pour le niveau de couverture vaccinale nécessaire ;
- Les incertitudes liées à l'extrapolation des données d'efficacité disponibles chez la chèvre pour le vaccin OCUREV®. En effet, compte tenu des résultats différents obtenus pour ces deux espèces, en matière d'innocuité, au cours de l'expérimentation du vaccin OCUREV® (à raison de $1 - 2 \cdot 10^9$ UFC/dose en instillation conjonctivale), une grande incertitude persiste sur son pouvoir protecteur chez le bouquetin, même si la proximité phylogénétique entre les deux espèces est un facteur a priori favorable dans le cadre de l'application du principe de la « cascade » ;
- La même difficulté à extrapoler les données existe chez d'autres espèces sauvages, pour des vaccins contre *B. abortus*, avec des essais de grande amplitude, montrant qu'une vaccination avec des vaccins traditionnels pendant des temps longs (plus de 30 ans) n'a pas permis de baisser la séroprévalence.

7.2.4 Conclusions

Comme indiqué ci-dessus, l'estimation de la balance risques/bénéfices est à conduire en considérant l'état de la situation sanitaire du Bargy vis-à-vis de la souche sauvage. A ce titre, les experts notent :

- Une possible amélioration de la situation sanitaire, apparemment constatée dans la population des bouquetins du Bargy, les relevés effectués depuis les 3 dernières années en zone cœur semblant révéler une tendance à la baisse de la séroprévalence.

Les experts soulignent toutefois l'incertitude de cette affirmation, liée à l'absence de données complètes disponibles au moment de l'expertise. En outre, il demeure impossible, à ce stade, de savoir si cette amélioration résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence, par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante. ;

- La probabilité de diffusion de la brucellose aux cheptels domestiques, qui demeure « quasi-nulle » à « minime » (1-2 sur une échelle ordinale de 0 à 9), conduisant à un risque « quasi-nul » pour l'Homme ;

Les risques et bénéfices exposés *supra* conduisent les experts à considérer que le recours à l'outil vaccinal OCUREV® à raison de 1-2 10⁹ UFC/dose, administrée par instillation conjonctivale, aurait un mauvais rapport risque/efficacité, dans la situation actuelle de l'infection dans la population de bouquetins et des moyens de captures aujourd'hui utilisés. La vaccination ne peut être recommandée à l'heure actuelle.

Si, en revanche, la situation épidémiologique venait à changer, notamment en cas d'augmentation de la séroprévalence, il serait nécessaire de réévaluer le rapport bénéfice/risques d'une utilisation de la vaccination en complément d'une stratégie sanitaire (gestion adaptative).

Les incertitudes concernant l'efficacité du vaccin OCUREV® chez le bouquetin et la dose pertinente pour cette espèce resteraient toutefois les mêmes et aucune alternative vaccinale n'existe aujourd'hui.

Il convient de rappeler que le niveau de risque acceptable, auquel va être comparé le risque estimé, lié à la vaccination des bouquetins, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'amélioration de la situation sanitaire chez les bouquetins. Ainsi, le scénario associant vaccination et mesures sanitaires devrait ne présenter un rapport bénéfice/risque favorable que pour une période transitoire.

Par ailleurs, les experts soulignent que cette évaluation du rapport bénéfices/risques de l'inclusion de la vaccination des bouquetins dans les scénarios de gestion, repose dans le présent rapport sur des éléments essentiellement scientifiques (lorsqu'ils existent), en association avec certaines considérations techniques, notamment en matière de faisabilité des scénarios de gestion.

Les experts n'ont pas pris en compte d'autres considérations, relevant davantage de la responsabilité du gestionnaire. Ainsi, différents points n'ont pas été évalués dans les précédents chapitres :

- L'effet que pourrait avoir la vaccination sur la motivation de différents acteurs : agents de terrain, observateurs, associations ... ainsi que sur l'acceptabilité des stratégies de gestion incluant cette vaccination.
- La prise en compte du risque humain en termes d'accidents, lors des captures et manipulations des bouquetins, compte tenu du caractère très escarpé du théâtre des opérations.
- S'il décidait d'avoir recours au vaccin, le gestionnaire serait amené à adopter un protocole vaccinal par analogie avec les animaux domestiques, sans que la probabilité de succès ne puisse être estimée, conduisant à de potentiels réajustements au fil des années. Les autorités de gestion pourraient, dans ce cadre, s'appuyer sur l'avancée des travaux de terrain animés par l'ONCFS et les progrès des travaux de modélisation actuellement menés dans le cadre d'un doctorat d'université. Le succès de ce scénario serait évalué de façon itérative, en fonction des résultats obtenus au fil des années.

Ce recours à la vaccination revêtirait en tout état de cause un caractère expérimental, dans la mesure où il n'existe pas de précédent chez les bouquetins. Le scénario devrait être mis en œuvre selon un protocole expérimental contrôlé, de telle sorte que des données valides

puissent être collectées et analysées, avant d'étendre la vaccination ou de l'arrêter selon les résultats de cet essai. Une perspective d'une dizaine d'années semble raisonnable pour tirer des conclusions d'un tel scénario.

Il relève de la décision du gestionnaire d'intégrer également ce type de considérations dans l'évaluation de la balance bénéfices/risques.

Voir réponse à la question 2 divergente en Annexe 2.

8 Conclusions du groupe de travail

8.1 Contexte

Suite à la découverte de deux cas humains de brucellose en France en 2012/2013, associés à la consommation en 2011, d'un fromage frais au lait cru, issu d'un élevage bovin laitier de Haute-Savoie (74) atteint de brucellose, la présence d'un réservoir sauvage de *Brucella melitensis* biovar 3 a été confirmée en 2012 dans la population de bouquetins du massif du Bargy dans les Alpes.

Cette situation a conduit à la mise en œuvre de nombreuses investigations par l'ONCFS pour caractériser ce foyer de brucellose, identifié au sein de la population des bouquetins du massif du Bargy. Elle a également donné lieu à plusieurs saisines de l'Anses, de 2013 à aujourd'hui, portant notamment sur l'évaluation des risques de transmission aux cheptels domestiques et à l'Homme, ainsi que sur l'analyse et l'évaluation de différentes options de gestion pour lutter contre cette infection.

Ces évaluations ont été menées au fil des années, en fonction des connaissances progressivement acquises sur la population de bouquetins du Bargy et sur l'évolution du foyer infectieux.

En 2017, différents scénarios de gestion ont été réévalués par l'Anses (Anses 2017) du fait de la mise en évidence d'une spatialisation de l'infection dans le massif du Bargy, les bouquetins de la zone cœur (secteurs Grand Bargy, Jallouvre-Peyre et Petit Bargy) s'avérant beaucoup plus infectés que ceux des secteurs périphériques (Leschaux-Andey et Charmieux-Buclon).

En parallèle, une expérimentation visant à évaluer l'innocuité du vaccin OCUREV® chez le bouquetin, en comparaison avec la chèvre, était menée par l'Anses, l'ONCFS, le MNHN et l'INRA.

Compte tenu des résultats de cette expérimentation, la présente saisine vise à compléter l'Avis de l'Anses (Anses 2017) en évaluant les bénéfices et les risques de l'apport complémentaire de la vaccination, aux scénarios de lutte contre la brucellose des bouquetins du Bargy préalablement évalués.

Le dossier de la brucellose des bouquetins du Bargy est caractérisé par une situation sans précédent, pour ce qui concerne pour ce qui concerne l'espèce touchée : le bouquetin et l'ampleur de l'infection à *Brucella melitensis*, et par une disponibilité des connaissances scientifiques à la fois peu étendue et évolutive au cours du temps.

Face à ce manque de connaissances vis-à-vis de l'espèce bouquetin en matière de lutte contre la brucellose à *B. melitensis*, les experts ont néanmoins cherché à apporter des réponses, destinées à venir en appui aux décisions du gestionnaire, mais ils soulignent les incertitudes incontournables, inhérentes à l'absence de connaissance scientifique ciblée sur le bouquetin dans ce domaine. En outre, le décalage dans le temps entre acquisition de données sur le Bargy et évaluation, ajoute une source d'incertitude au moment de l'expertise qui impacte les conclusions de l'évaluation.

8.2 Objectif des mesures de lutte

Les experts rappellent que toute mesure de gestion de risque doit répondre à un objectif préalablement défini. Dans le contexte de l'infection brucellique des bouquetins du Bargy, l'objectif le plus réaliste est la recherche d'un contrôle (maîtrise) de l'infection dans la population des bouquetins, par la réduction de la prévalence et/ou du nombre d'animaux infectés, en vue (1) de diminuer la probabilité de contact direct et indirect des animaux domestiques avec un bouquetin infecté et (2) d'atteindre un niveau d'infection permettant d'augmenter la probabilité d'obtenir une extinction naturelle de l'infection.

En outre, il doit s'agir d'une gestion adaptative, à moduler dans le temps pour tenir compte à la fois, de l'évolution des connaissances des mécanismes régissant cette infection et de l'évolution de la situation sanitaire.

8.3 Situation populationnelle et sanitaire

Le suivi de la situation sanitaire relative à la brucellose du bouquetin dans le Bargy est réalisé depuis 2012, sans toutefois que toutes les questions soulevées par ce foyer aient trouvé des réponses.

Les principales avancées sont la mise en évidence d'une structuration socio-spatiale des bouquetins femelles qui ne semble pas avoir été bouleversée par les mesures de maîtrise successivement appliquées (notamment les campagnes importantes de 2013 et 2015) et qui se sont soldées par l'élimination³⁵ de plus de 459 individus et le marquage de 257 animaux. Le marquage d'un nombre croissant d'animaux a conduit à distinguer deux sous-populations d'animaux : les bouquetins marqués (testés négatifs, marqués et relâchés) et les non marqués (jamais testés).

La présente saisine aurait pu mettre à profit un nouveau jeu de données, non disponible à l'époque du précédent rapport 2016-SA-0229 (Anses 2017), concernant les suivis populationnel et sanitaire des années 2016-2017-2018. Cependant, ces données n'ont pas pu être accessibles pour l'expertise collective dans le temps imparti, et l'analyse n'a pu reposer que très partiellement sur ces nouvelles acquisitions de connaissances. En conséquence, la présente évaluation repose sur une forte incertitude concernant l'évolution sanitaire dans le massif du Bargy.

Sans pouvoir l'objectiver, le GT n'ayant pas eu accès aux travaux en cours, il semble d'après des communications personnelles issues d'auditions, que la séroprévalence soit en baisse, à la fois chez les animaux marqués et chez les animaux non marqués et à la fois en zone cœur (avec un peu plus de 20% pour la période cumulée 2016-2017-2018) et (au moins en tendance) en zone périphérique.

Il convient cependant d'être prudent sur les conclusions à plus long terme de cette apparente amélioration car il n'est pas possible à ce stade de savoir si elle résulte uniquement de la baisse mécanique de la séroprévalence, par l'élimination sélective des animaux séropositifs, ou s'il s'agit d'une baisse durable de la séroprévalence, avec diminution de l'incidence dans la population restante. En outre, cette amélioration pourrait éventuellement être remise en cause ultérieurement par une reprise de la dynamique de la population.

En termes de risques, l'infection brucellique n'apparaît pas avoir un impact significatif sur la dynamique de la population des bouquetins du Bargy,

Le risque de diffusion de l'infection hors du massif existe et n'est pas estimé actuellement faute de données disponibles (pas de plan d'échantillonnage dans les massifs adjacents).

Les conséquences de l'existence de l'infection brucellique chez les bouquetins sont, en outre, négligeables en termes de risque de transmission pour d'autres espèces de la faune alpine (2 chamois reconnus infectés, l'un en 2012, l'autre en 2013), pour les ruminants domestiques (1 foyer bovin identifié en 2012) et pour les humains (aucun nouveau cas n'a été recensé depuis les 2 cas de brucellose alimentaire, liés au foyer bovin, reconnus en 2012-2013, indiquant une probabilité de survenue négligeable, même si les conséquences de ces cas de brucellose alimentaire peuvent être graves).

8.4 Vaccin OCUREV® chez le bouquetin : innocuité – efficacité

En matière d'innocuité, les résultats obtenus lors de l'expérimentation du vaccin chez le bouquetin montrent une sensibilité plus importante du bouquetin à la souche vaccinale, par rapport à la

³⁵ Euthanasie des séropositifs et abattages indiscriminés

chèvre. A l'analyse de ces résultats, les experts estiment que les effets indésirables à prendre réellement en compte sont :

- le risque d'avortement, lorsque la vaccination est effectuée sur une femelle bouquetin gestante,
- l'excrétion probable de la souche vaccinale dans l'environnement, en particulier en cas d'avortement ou mise bas,
- la séroconversion des bouquetins vaccinés et des animaux contacts infectés par voie directe ou indirecte (contamination de l'environnement) à la suite de l'excrétion de la souche vaccinale par les animaux vaccinés.

En outre, un doute demeure sur le risque de persistance de la souche vaccinale et les conséquences qu'elles induisent chez le bouquetin, ce risque n'ayant pu être objectivé au-delà des 90 jours de l'expérimentation du vaccin chez le bouquetin et les données de terrain étant à ce jour limitées.

Compte tenu de cette incertitude au-delà des 90 jours d'expérimentation, l'interprétation des experts du GT sur le long terme diffère :

- Pour un expert, ces éléments couplés aux données de la littérature relatives à la virulence et à la pathogénicité des *Brucella* sauvages et vaccinales, permettent de conclure qu'il est hautement probable que la souche va persister longtemps chez le bouquetin vacciné, peut-être toute la vie de l'animal.
- Pour les autres experts, si l'expérimentation vaccinale sur le bouquetin citée ci-dessus, suggère que la souche vaccinale est susceptible de persister longtemps chez le bouquetin vacciné, il reste que cette expérience est unique dans ce domaine, et le devenir de la souche vaccinale au-delà de 90 jours post-vaccination demeure inconnu dans cette espèce.

En matière d'efficacité, il convient de rappeler que l'expérimentation du vaccin avait pour objectif de contrôler l'innocuité de la souche vaccinale chez le bouquetin, mais ne visait pas à mesurer son efficacité, dans la mesure où aucune épreuve virulente n'a été mise en œuvre (les essais sur l'efficacité étant techniquement et irréalisables sur bouquetins, les mesures de biosécurité exigées étant incompatibles avec leur bien-être).

Aucune donnée d'efficacité n'est donc disponible chez le bouquetin, tant pour le niveau de protection atteint, la durée de cette protection, que pour le niveau de couverture vaccinale nécessaire. L'absence de données disponibles chez le bouquetin limite l'expertise et conduit à ne pouvoir raisonner que par analogie, par rapport à la chèvre ou à d'autres espèces sauvages. Dans ce contexte d'incertitude, l'approche des experts du GT diffère quant aux extrapolations envisageables à partir d'autres espèces :

- Pour la majorité du GT (tous les experts à l'exception d'un), la distance phylogénétique entre l'espèce sur laquelle on souhaite employer le vaccin et l'espèce-cible de l'AMM du vaccin (i.e. la chèvre) est importante à prendre en compte dans la présente approche, visant à évaluer l'usage de ce vaccin chez les bouquetins, selon le principe de la « cascade ». A ce titre, la grande proximité phylogénétique (Pidancier *et al.* 2006) entre chèvre et bouquetin a guidé les experts depuis 2014 dans leurs travaux relatifs à la vaccination des bouquetins, notamment pour le protocole de l'expérimentation vaccinale. Il demeure que les résultats de cette expérimentation incitent néanmoins à la prudence vis-à-vis du principe d'extrapolation. Les échecs enregistrés dans le Greater Yellowstone Area incitent également à la prudence dans l'extrapolation, même s'il s'agit d'espèces animales, de *Brucella* et de vaccins distincts par rapport à la situation du bouquetin du Bargy.
- Pour un expert, l'extrapolation à partir de la seule espèce cible de l'AMM ne paraît pas pertinente car c'est le couple espèce cible – agent pathogène qui est pertinent vu la pathogénicité et les facteurs de virulence communs à toutes les espèces de *Brucella* « smooth » et la pathologie similaire induite par les espèces de *Brucella* « smooth » chez leur(s) espèce(s) cible(s). A ce titre, il convient de constater que les bénéfices de la vaccination pour les espèces domestiques (pour les vaccins S19 et RB51) utilisés pour le

couple bovin-*B. abortus* n'ont pas été confirmés chez les espèces sauvages pour les couples bison-*B. abortus* et wapiti-*B. abortus* dans le parc du Yellowstone. Dès lors, il est fondé de suivre l'absence de recommandation de la vaccination telle que formulée par les experts dans le rapport cité ci-dessus (National Academies of Sciences et Medicine 2017).

8.5 Scénario intégrant la vaccination

Le scénario de base considéré par les experts consiste, en zone cœur, en une euthanasie sélective des bouquetins (capture, test sérologique, euthanasie des séropositifs, marquage et relâcher des séronégatifs), visant à constituer un noyau sain, associée à un abattage indiscriminé des animaux les moins accessibles.

La vaccination s'ajouterait à ce scénario par la vaccination des animaux capturés et trouvés séronégatifs, avant de les marquer spécifiquement et de les relâcher. Les campagnes successives conduiraient à créer un noyau d'animaux vaccinés, qui se substituerait et/ou s'ajouterait progressivement au noyau des animaux testés séronégatifs, lors des campagnes de captures antérieures, en vue d'accélérer la baisse de la prévalence de l'infection par rapport à un scénario exclusivement sanitaire.

Cependant, compte tenu de l'absence de données sur l'efficacité du vaccin chez le bouquetin, il n'est pas possible pour les experts d'estimer la probabilité d'atteindre l'objectif fixé pour l'extinction de la brucellose dans le massif du Bargy, en complétant, par la vaccination des animaux séronégatifs, le scénario sanitaire précité.

Compte tenu des taux de captures permis par les moyens utilisés actuellement, la proportion d'animaux vaccinés dans la zone cœur pourrait atteindre annuellement 10-15% (sans vacciner les femelles gestantes) à 20 % (en vaccinant les gestantes). Sans connaître le niveau de couverture vaccinale nécessaire pour cette population de bouquetins, ces chiffres conduiraient néanmoins à devoir envisager des opérations de vaccination sur plusieurs années et en faisant appel à d'autres modalités de captures (alternatives pour animaux méfiants, augmentation du nombre d'animaux capturés, ...).

A ce titre, les travaux en cours sur la modélisation de la brucellose dans la population de bouquetins du Bargy, intégrant les données de spatialisation de l'infection, pourraient apporter des éléments utiles sur le plan opérationnel.

8.6 Evaluation des bénéfices et des risques liés au scénario avec vaccination

Le dossier de la brucellose des bouquetins du Bargy est caractérisé par une situation sans précédent, pour ce qui concerne l'espèce bouquetin et l'infection à *Brucella melitensis*, et par une disponibilité des connaissances scientifiques à la fois peu étendue et évolutive au cours du temps.

Face au manque de connaissances vis-à-vis de l'espèce bouquetin en matière de lutte contre la brucellose à *B. melitensis*, les experts ont néanmoins cherché à apporter des réponses, destinées à venir en appui aux décisions du gestionnaire, mais ils soulignent les incertitudes incontournables, inhérentes à l'absence de documentation ciblée sur le bouquetin. L'ensemble de ces incertitudes est rappelé en annexe 6.

Ces incertitudes ont notamment conduit les experts, en l'absence de données scientifiques sur le bouquetin, à exprimer leur « avis d'expert ». Celui-ci s'est avéré, sur certains points, non totalement convergent, à la fois sur l'innocuité et sur l'efficacité du vaccin.

De ce fait, un expert a souhaité exprimer des réponses aux questions de la saisine, différentes du reste du Groupe de Travail. Celles-ci sont reprises intégralement en Annexe 2.

En ce qui concerne les risques liés au scénario avec vaccination, il convient de souligner que cette évaluation se place dans le contexte d'une infection de la population des bouquetins par une

souche sauvage de *B. melitensis*, avec l'objectif d'en obtenir l'extinction, pour des raisons sanitaires réglementaires (conserver le statut indemne de la France en prouvant la maîtrise et l'extinction du foyer) et de santé publique. Ainsi, la notion de risque lié à la vaccination de la population de bouquetins ne s'apprécie pas forcément de la même manière, selon que l'on prend en compte, ou non, cet objectif en priorité.

Par ailleurs, dans le cadre de l'analyse de risque et dans ce contexte sanitaire, caractérisé notamment par une séroprévalence élevée (estimée encore à 20%) en zone cœur, le niveau de risque acceptable, auquel va être comparé le risque estimé, lié à la vaccination des bouquetins, est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'évolution de la situation sanitaire chez les bouquetins.

Ces deux éléments sont à prendre en compte dans une évaluation des bénéfices et des risques.

Néanmoins, compte tenu de la persistance des anticorps vaccinaux et de l'excrétion dans l'environnement de la souche vaccinale, les experts ont souligné que la mise en place d'une vaccination aurait un impact négatif important sur la surveillance sanitaire et la gestion du foyer dans la population de bouquetins, dans le contexte des modalités de capture actuellement pratiquées sur le massif du Bargy. En effet, il n'existe pas, à ce jour, de technique sérologique réalisable au chevet de l'animal, permettant de distinguer les animaux infectés par la souche sauvage des animaux vaccinés par la souche REV.1.

Même si les occasions de contacts interspécifiques sont plus rares qu'en intra spécifique, et que la probabilité d'un passage d'une souche vaccinale est en deçà de celle d'un passage d'une souche sauvage, une séroconversion chez un ruminant domestique pourrait interférer avec le dépistage de la brucellose dans les cheptels, nécessitant de contrôler l'origine de cette séroconversion, avec un abattage diagnostique.

En ce qui concerne l'efficacité, il a été précisé ci-dessus qu'il n'existait pas de données disponibles pour le bouquetin.

Les risques et bénéfices exposés dans le présent rapport conduisent les experts à considérer que le recours à l'outil vaccinal OCUREV® à raison de 1-2 10⁹ UFC/dose, administré par instillation conjonctivale ne peut être recommandé en l'état actuel des connaissances.

En outre, les experts soulignent le caractère indispensable du maintien de la surveillance des bouquetins dans le massif (zone cœur et zone périphérique), afin de suivre l'évolution de la situation sanitaire : confirmer la tendance à l'amélioration décrite au groupe d'experts durant les travaux, mais également vérifier, au cours des années à venir, si cette tendance est durable et ne s'inverse pas (du fait d'une augmentation de la dynamique de population, si elle devait avoir un impact négatif sur l'évolution de la séroprévalence de la brucellose).

Il convient également de souligner que, si la séroprévalence a atteint dans la population de bouquetins de la zone cœur un niveau de 20% en 2018 (selon les scientifiques auditionnés), après avoir été à plus de 40% 6 ans plus tôt, ce taux de séroprévalence reste encore relativement élevé et des mesures de gestion doivent être maintenues pour faire passer la séroprévalence bien en-dessous de 20%.

Si l'amélioration ne se confirmait pas au cours des années à venir, la question de l'analyse des bénéfices et des risques du scénario associant mesures sanitaires et vaccination des bouquetins, pourrait éventuellement se poser à nouveau. Celle-ci pourrait bénéficier, sur le plan opérationnel, de l'apport du modèle, en cours d'élaboration.

Les incertitudes concernant l'efficacité du vaccin OCUREV® chez le bouquetin et la dose pertinente pour cette espèce resteraient toutefois les mêmes et aucune alternative vaccinale

n'existe aujourd'hui. De même, les inconvénients présentés par ce vaccin, et notamment les interactions avec la surveillance des bouquetins et des ruminants domestiques perdureront.

Les experts rappellent que le niveau de risque acceptable lié à la vaccination est d'autant plus haut que le risque lié à la souche sauvage est élevé. Ce niveau de risque acceptable a donc un caractère dynamique : il évolue au cours du temps et dépend de l'évolution de la situation sanitaire chez les bouquetins. Ainsi, le scénario associant vaccination et mesures sanitaires devrait ne présenter un rapport bénéfice/risque favorable ou défavorable que pour une période transitoire, en fonction de l'évolution de l'infection dans la population.

Enfin, les experts pointent l'incertitude qui subsiste sur la situation des massifs voisins du Bargy vis-à-vis de la brucellose. La surveillance de ces massifs (tel que celui des Aravis) est recommandée.

Par ailleurs, les experts soulignent que cette évaluation du rapport bénéfices/risques de l'inclusion de la vaccination des bouquetins dans les scénarios de gestion, repose dans le présent rapport sur des éléments essentiellement scientifiques (lorsqu'ils existent), en association avec certaines considérations techniques, notamment en matière de faisabilité des scénarios de gestion.

Les experts n'ont pas pris en compte d'autres considérations, relevant davantage de la responsabilité du gestionnaire. Ainsi, différents points n'ont pas été évalués dans les précédents chapitres :

- L'effet que pourrait avoir la vaccination sur la motivation de différents acteurs : agents de terrain, observateurs, associations ... ainsi que sur l'amélioration de l'acceptabilité des stratégies de gestion incluant cette vaccination.
- La prise en compte du risque humain en termes d'accidents, lors des captures et manipulations des bouquetins, compte tenu du caractère très escarpé du théâtre des opérations.
- S'il décidait d'avoir recours au vaccin, le gestionnaire serait amené à adopter un protocole vaccinal par analogie avec les animaux domestiques, sans que la probabilité de succès ne puisse être estimée, conduisant à de potentiels réajustements au fil des années. Les autorités de gestion pourraient, dans ce cadre, s'appuyer sur l'avancée des travaux de terrain animés par l'ONCFS et les progrès des travaux de modélisation actuellement menés dans le cadre d'un doctorat d'université. Le succès de ce scénario serait évalué de façon itérative, en fonction des résultats obtenus au fil des années.

Ce recours à la vaccination revêtirait en tout état de cause un caractère expérimental, dans la mesure où il n'existe pas de précédent dans cette population. Le scénario devrait être mis en œuvre selon un protocole expérimental contrôlé, de telle sorte que des données valides puissent être collectées et analysées, avant d'étendre la vaccination ou de l'arrêter selon les résultats de cet essai. Une perspective d'une dizaine d'années semble raisonnable pour tirer des conclusions d'un tel scénario.

Il relève de la décision du gestionnaire d'intégrer ce type de considérations dans l'évaluation de la balance bénéfices/risques.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail : 11 avril 2019



9 Bibliographie

9.1 Publications

- Afssa. 2008. "Une méthode qualitative d'estimation du risque en santé animale." Maisons-Alfort (France): Anses.
- Al-Mariri, A. 2008. "Ultraviolet C lethal effect on *Brucella melitensis*." *New Microbiol* 31 (1):47-55.
- Alton, G. G. 1966. "Duration of the immunity produced in goats by the Rev. 1 *Brucella melitensis* vaccine." *J Comp Pathol* 76 (3):241-53.
- Alton, G. G. 1967. "Rev. 1 *Brucella melitensis* vaccine. Serological reactions in Maltese goats." *J Comp Pathol* 77 (3):327-9.
- Alton, G. G. 1968. "Further studies on the duration of the immunity produced in goats by the Rev. 1 *Brucella melitensis* vaccine." *J Comp Pathol* 78 (2):173-8.
- Anses. 2013. "AVIS de l'Anses relatif aux « mesures à prendre sur les bouquetins pour lutter contre la brucellose sur le massif du Bargy, Haute-Savoie » " Maisons-Alfort, France: Anses.
- Anses. 2015. "AVIS et rapport de l'Anses relatifs aux « mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy » " Maisons-Alfort: Anses; Contract No.: 2014-SA-0218.
- Anses. 2017. "AVIS de l'Anses relatif à l'évaluation approfondie et réactualisée de mesures de maîtrise du foyer de brucellose chez les bouquetins du Bargy " Maisons-Alfort: Anses; Contract No.: 2016-SA-0229.
- Anses, et ONCFS. 2016. "Rapport d'Appui Scientifique et Technique pour définir et évaluer bibliographiquement les critères préalables à une approche vaccinale contre la brucellose chez les bouquetins du massif du Bargy." Maisons-Alfort: Anses; Contract No.: 2016-SA-0146.
- Banai, M. 2002. "Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine: laboratory aspects and field observations." *Vet Microbiol* 90 (1-4):497-519.
- Banai, M., M. Abramson, I. Mayer, K. Chechik, G. Hoida, S. Bardenstein, A. Cohen, et M. Davidson. 1995. "Problems associated with the persistence and possible horizontal transfer of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine in connection with serological surveillance in Israel." FAO/WHO/OIE Round Table on the Use of Rev.1 Vaccine in Small Ruminants and Cattle, CNEVA - Maisons-Alfort (France).
- Banai, M., I. Mayer, et A. Cohen. 1990. "Isolation, identification, and characterization in Israel of *Brucella melitensis* biovar 1 atypical strains susceptible to dyes and penicillin, indicating the evolution of a new variant." *J Clin Microbiol* 28 (5):1057-9.
- Beauvais, W., I. Musallam, et J. Guitian. 2016. "Vaccination control programs for multiple livestock host species: an age-stratified, seasonal transmission model for brucellosis control in endemic settings." *Parasit Vectors* 9:55. doi: 10.1186/s13071-016-1327-6.
- Benavides, J. A., D. Caillaud, B. M. Scurlock, E. J. Maichak, W. H. Edwards, et P. C. Cross. 2017. "Estimating Loss of *Brucella abortus* Antibodies from Age-Specific Serological Data In Elk." *Ecohealth* 14 (2):234-243. doi: 10.1007/s10393-017-1235-z.
- Blasco, J. M. 1997. "A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats." *Prev Vet Med* 31 (3-4):275-83.
- Blasco, J. M., et R. Diaz. 1993. "*Brucella melitensis* Rev-1 vaccine as a cause of human brucellosis." *Lancet* 342 (8874):805.
- Boroff, K., M. Kauffman, D. Peck, E. Maichak, B. Scurlock, et B. Schumaker. 2016. "Risk assessment and management of brucellosis in the southern greater Yellowstone area (II):

- Cost-benefit analysis of reducing elk brucellosis prevalence." *Prev Vet Med* 134:39-48. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.09.025.
- Byndloss, M. X., et R. M. Tsolis. 2016. "Brucella spp. Virulence Factors and Immunity." *Annu Rev Anim Biosci* 4:111-27. doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111326.
- Caughley, Graeme. 1977. *Analysis of vertebrate populations*. Chichester: Wiley & Sons.
- Commission, European. 2001. "Brucellosis in sheep and goats (*Brucella melitensis*) " Bruxelles (Belgium): SANCO.C.2. 89.
- Cornille, Y. 1996. "Field experiences with REV.1 vaccine in France." FAO/WHO/OIE Round Table on the Use of Rev1.
- Cross, P. C., E. J. Maichak, A. Brennan, B. M. Scurlock, J. Henningsen, et G. Luikart. 2013. "An ecological perspective on *Brucella abortus* in the western United States." *Rev Sci Tech* 32 (1):79-87.
- Davis, D. S., F. C. Heck, J. D. Williams, T. R. Simpson, et L. G. Adams. 1988. "Interspecific transmission of *Brucella abortus* from experimentally infected coyotes (*Canis latrans*) to parturient cattle." *J Wildl Dis* 24 (3):533-7. doi: 10.7589/0090-3558-24.3.533.
- Dobson, Andrew, et Mary Meagher. 1996. "The population dynamics of brucellosis in the Yellowstone National Park." *Ecology* 77 (4):1026-1036.
- Elberg, S. S. 1959. "Immunization against *Brucella* infection. 7. Immunological and epidemiological studies in Cordoba, Spain." *Bull World Health Organ* 20:1033-52.
- Elberg, S. S., et K. Faunce, Jr. 1957. "Immunization against *Brucella* infection. VI. Immunity conferred on goats by a nondependent mutant from a streptomycin-dependent mutant strain of *Brucella melitensis*." *J Bacteriol* 73 (2):211-7.
- Elberg, S. S., et W. K. Faunce, Jr. 1962. "Immunization against *Brucella* infection. 8. The response of *Cynomolgus philippinensis*, guinea-pigs and pregnant goats to injection by the Rev I strain of *Brucella melitensis*." *Bull World Health Organ* 26:421-36.
- FAO/WHO/OIE. 2009. "*Brucella melitensis* in Eurasia and the Middle East." Rome: FAO.
- Fensterbank, R., J. M. Verger, et M. Grayon. 1987. "Conjunctival vaccination of young goats with *Brucella melitensis* strain Rev 1." *Ann Rech Vet* 18 (4):397-403.
- Forbes, L. B., S. V. Tessaro, et W. Lees. 1996. "Experimental studies on *Brucella abortus* in moose (*Alces alces*)." *J Wildl Dis* 32 (1):94-104. doi: 10.7589/0090-3558-32.1.94.
- Garin-Bastuji, B, JM Blasco, C Marin, et D Albert. 2006. "The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools." *Small Ruminant Research* 62 (1-2):63-70.
- Garin-Bastuji, B., J. Oudar, Y. Richard, et J. Gastellu. 1990. "Isolation of *Brucella melitensis* biovar 3 from a chamois (*Rupicapra rupicapra*) in the southern French Alps." *J Wildl Dis* 26 (1):116-8. doi: 10.7589/0090-3558-26.1.116.
- Garrido-Abellan, F. 1992. "Rev. I and B19 vaccine control in Spain. Observations on the handling and effectiveness of Rev. I vaccine and the immune response." International seminar CIHEAM, CEC, MINAG (Malta), FIS (Malta), Valleta, Malta, 28-30 October 1991.
- Gaumont, R, Daniele Trap, et L Dhennin. 1978. "Immunisation de la chèvre primipare contre l'infection expérimentale à *Brucella melitensis* comparaison des vaccins REV. 1 et H 38. EXPERIENCES DE FOUGERES. CINQUIEME PARTIE." *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- Gauthier, D, G Chatain, JP Choisy, JP Crampe, JP Martinot, J Michallet, G Terrier, L Tron, et JC Villaret. 1994. "L'organisation des réintroductions de bouquetin en France—la charte du bouquetin." Meeting of the Gruppo Stambecco Europa., Parco Nazionale Gran Paradiso.
- Gauthier, D, J. Hars, et S. Rossi. 1998. "Etude de trois foyers de Brucellose chez le Chamois (*Rupicapra rupicapra*) et leurs relations avec le pastoralisme." 23^{ème} Congrès de l'Union Internationale des Biologistes du Gibier Lyon, 1-6 septembre 1997.

- Gauthier, D, M. Thuault, E. Gervasoni, G. Honyiglo, M. Ragon, N. Mangin, et L. Poussin. 2014. "Evaluation du risque de contamination domestique – sauvage en alpage : comment donner un indice d'exposition ? Exemple du BBB." 32^{èmes} Rencontres du GEEFSM, Olivone (Suisse), 6-8 juin 2014.
- Gilles, G. 1977. "Quelques considérations sur la brucellose des petits ruminants à *Brucella melitensis*." *Recueil de medecine veterinaire*.
- Golding, B., D. E. Scott, O. Scharf, L. Y. Huang, M. Zaitseva, C. Lapham, N. Eller, et H. Golding. 2001. "Immunity and protection against *Brucella abortus*." *Microbes Infect* 3 (1):43-8.
- Goodwin, Zakia I, et David W Pascual. 2016. "Brucellosis vaccines for livestock." *Veterinary immunology and immunopathology* 181:51-58.
- Hars, J, A Vaniscotte, Y Game, C Toigo, A Depecker, et B Garin-Bastuji. 2015. "Surveillance et gestion d'un foyer de brucellose chez le bouquetin dans le massif du Barge (Haute-Savoie)." *Faune Sauvage* 306:11-20.
- He, Y. 2012. "Analyses of *Brucella* pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics." *Front Cell Infect Microbiol* 2:2. doi: 10.3389/fcimb.2012.00002.
- Higgins, J. L., M. Gonzalez-Juarrero, et R. A. Bowen. 2017. "Evaluation of shedding, tissue burdens, and humoral immune response in goats after experimental challenge with the virulent *Brucella melitensis* strain 16M and the reduced virulence vaccine strain Rev. 1." *PLoS One* 12 (10):e0185823. doi: 10.1371/journal.pone.0185823.
- Hinic, V., I. Brodard, E. Petridou, G. Filioussis, V. Contos, J. Frey, et C. Abril. 2010. "Brucellosis in a dog caused by *Brucella melitensis* Rev 1." *Vet Microbiol* 141 (3-4):391-2. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.09.019.
- Hobbs, N Thompson, Chris Geremia, John Treanor, Rick Wallen, PJ White, Mevin B Hooten, et Jack C Rhyan. 2015. "State-space modeling to support management of brucellosis in the Yellowstone bison population." *Ecological Monographs* 85 (4):525-556.
- Hofer, E., S. Revilla-Fernandez, S. Al Dahouk, J. M. Riehm, K. Nockler, M. S. Zygmunt, A. Cloeckert, H. Tomaso, et H. C. Scholz. 2012. "A potential novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxes in Austria." *Vet Microbiol* 155 (1):93-9. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.08.009.
- Issa, M. N., et Y. Ashhab. 2016. "Identification of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine-strain genetic markers: Towards understanding the molecular mechanism behind virulence attenuation." *Vaccine* 34 (41):4884-4891. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.08.059.
- Jimenez de Bagues, M. P., C. M. Marin, M. Barberan, et J. M. Blasco. 1989. "Responses of ewes to *B. melitensis* Rev1 vaccine administered by subcutaneous or conjunctival routes at different stages of pregnancy." *Ann Rech Vet* 20 (2):205-13.
- Joly, Damien O, et Francois Messier. 2005. "The effect of bovine tuberculosis and brucellosis on reproduction and survival of wood bison in Wood Buffalo National Park." *Journal of Animal Ecology* 74 (3):543-551.
- Kreeger, T. J., W. E. Cook, W. H. Edwards, P. H. Elzer, et S. C. Olsen. 2002. "*Brucella abortus* strain RB51 vaccination in elk. II. Failure of high dosage to prevent abortion." *J Wildl Dis* 38 (1):27-31. doi: 10.7589/0090-3558-38.1.27.
- Lambert, S., E. Gilot-Fromont, Toïgo C., Ganière J.P., B Garin-Bastuji, D Gauthier, Gaillard J.M., S. Rossi, et Thébault A. 2018. "L'apport de la modélisation dans la compréhension du système brucellose-bouquetin du Barge." *Epidemiol et santé anim.* 74:43-54.
- Lambert, S., E. Gilot-Fromont, P. Freycon, A. Thebault, Y. Game, C. Toigo, E. Petit, M. N. Barthe, G. Reynaud, M. Jay, B. Garin-Bastuji, C. Ponsart, J. Hars, et S. Rossi. 2018. "High Shedding Potential and Significant Individual Heterogeneity in Naturally-Infected Alpine ibex (*Capra ibex*) With *Brucella melitensis*." *Front Microbiol* 9:1065. doi: 10.3389/fmicb.2018.01065.

- Maichak, Eric J, Brandon M Scurlock, Paul C Cross, Jared D Rogerson, William H Edwards, Benjamin Wise, Scott G Smith, et Terry J Kreeger. 2017. "Assessment of a strain 19 brucellosis vaccination program in elk." *Wildlife Society Bulletin* 41 (1):70-79.
- Mancilla, M., M. J. Grillo, M. J. de Miguel, I. Lopez-Goni, B. San-Roman, A. Zabalza-Barangua, et I. Moriyon. 2013. "Deletion of the GI-2 integrase and the wbkA flanking transposase improves the stability of *Brucella melitensis* Rev 1 vaccine." *Vet Res* 44:105. doi: 10.1186/1297-9716-44-105.
- Marchand, P., P. Freycon, J. P. Herbaux, Y. Game, C. Toigo, E. Gilot-Fromont, S. Rossi, et J. Hars. 2017. "Sociospatial structure explains marked variation in brucellosis seroprevalence in an Alpine ibex population." *Sci Rep* 7 (1):15592. doi: 10.1038/s41598-017-15803-w.
- Meyer, M. E., et M. Meagher. 1995. "Brucellosis in free-ranging bison (*Bison bison*) in Yellowstone, Grand Teton, and Wood Buffalo National Parks: a review." *J Wildl Dis* 31 (4):579-98. doi: 10.7589/0090-3558-31.4.579.
- Minas, A., M. Minas, A. Stournara, et S. Tselepidis. 2004. "The "effects" of Rev-1 vaccination of sheep and goats on human brucellosis in Greece." *Prev Vet Med* 64 (1):41-7. doi: 10.1016/j.prevetmed.2004.03.007.
- Morgan, W. J., A. I. Littlejohn, D. J. Mackinnon, et J. R. Lawson. 1966. "The degree of protection given by living vaccines against experimental infection with *Brucella melitensis* in goats." *Bull World Health Organ* 34 (1):33-40.
- National Academies of Sciences, Engineering, et Medicine. 2017. *Revisiting brucellosis in the Greater Yellowstone Area*: National Academies Press.
- Ne'eman, L. 1968. "safety of the Rev 1 strain of *Brucella melitensis* for pregnant sheep by natural contact." *Refuah Vet*.
- Ne'eman, L. 1968. "Virulence stability of the Rev. 1 strain of *Brucella melitensis* on passage in pregnant sheep." *Refuah Vet* 3:188-202.
- Nishi, John Susumu. 2010. *A review of best practices and principles for bison disease issues: Greater Yellowstone and Wood Buffalo areas*: American Bison Society.
- OIE. 2018. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) (Infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*). Dans *OIE Terrestrial Manual* édité par OIE. Paris.
- Oliveira, Sergio C, et Gary A Splitter. 1995. "CD8+ type 1 CD44hi CD45 RBlo T lymphocytes control intracellular *Brucella abortus* infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I-and class II-deficient mice." *European journal of immunology* 25 (9):2551-2557.
- Olsen, S. C., S. J. Fach, M. V. Palmer, R. E. Sacco, W. C. Stoffregen, et W. R. Waters. 2006. "Immune responses of elk to initial and booster vaccinations with *Brucella abortus* strain RB51 or 19." *Clin Vaccine Immunol* 13 (10):1098-103. doi: 10.1128/cvi.00213-06.
- Olsen, S. C., et C. Johnson. 2011. "Comparison of abortion and infection after experimental challenge of pregnant bison and cattle with *Brucella abortus* strain 2308." *Clin Vaccine Immunol* 18 (12):2075-8. doi: 10.1128/cvi.05383-11.
- Olsen, S. C., T. J. Kreeger, et M. V. Palmer. 2002. "Immune responses of elk to vaccination with *Brucella abortus* strain RB51." *J Wildl Dis* 38 (4):746-51. doi: 10.7589/0090-3558-38.4.746.
- Otermin, I., A. Pereda, M. Martinez-Grande, et L. Torroba. 2004. "Use of veterinary vaccines associated with illness in a man." *Clin Infect Dis* 38 (1):155. doi: 10.1086/380464.
- Pasquier, J.J. 1994. "Le bouquetin des Alpes, état des populations sur le département de la Haute Savoie." Vendôme: CSTC-LEGTA de Vendôme.
- Peracino, Vittorio, et Bruno Bassano. 1986. *Relazione sullo stato delle colonie di stambecco (capra ibex, ibex L.) sull'arco alpino italiano, create con l'immissione di animali provenienti dall'Ente Parco Nazionale Gran Paradiso*.

- Peterson, Markus John, WE Grant, et DS Davis. 1991. "Simulation of host—parasite interactions within a resource management framework: impact of brucellosis on bison population dynamics." *Ecological Modelling* 54 (3-4):299-320.
- Petit, E., E. Giguët, A. Beche, J.J. Pasquier, I. Emin, E. Gervasoni, O. Pinguet, D. Gauthier, S. Anselme-Martin, E. Maucci, Y. Game, C. Toigo, P. Marchand, et S. Rossi. 2018. "La brucellose dans le massif du Bargy : pourquoi pas le chamois ? ." 36ème Rencontres du GEEFSM, Orly (France), 14-16 septembre 2018.
- Philippon, A, E Roumy, et G Renoux. 1969. "Un cas de brucellose canine à brucella abortus." *Bulletin de l'Academie veterinaire de France*.
- Pidancier, N., S. Jordan, G. Luikart, et P. Taberlet. 2006. "Evolutionary history of the genus Capra (Mammalia, Artiodactyla): discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies." *Mol Phylogenet Evol* 40 (3):739-49. doi: 10.1016/j.ympev.2006.04.002.
- Pishva, E, et MANSOUR SALEHI. 2008. "First report of isolation of Brucella melitensis, vaccine strain Rev. 1 as a source of cattle infection in Iran."
- Plommet, M. 1995. "Live vaccines: virulence, immunogenicity/protection and safety. Historical, theoretical and practical considerations applied to the Brucella melitensis Rev. 1 vaccine." *FAO/WHO/OIE Round Table on the Use of Rev1:7-18*.
- Ponsart, C., B Garin-Bastuji, M. Riou, Y. Locatelli, A. Fadeau, M. Jay, I. Jacques, R. Simon, L. Perrot, L. Freddi, S. Breton, T. Chaumeil, B. Blanc, K. Ortiz, D. Rioult, E. Quéméré, P. Sarradin, J.Y. Chollet, et S. Rossi. 2018. "Vaccination anti-brucellique du bouquetin des Alpes (*Capra ibex*), une option pour l'assainissement du massif du Bargy ?" *Epidemiol et santé anim.* 74:25-42.
- Ponsart, C., M. Riou, Y. Locatelli, A. Fadeau, M. Jay, I. Jacques, R. Simon, L. Perrot, S. Breton, T. Haumeuil, B. Blanc, K. Ortiz, D. Rioult, E. Quéméré, P. Sarradin, J.Y. Chollet, B. Garin-Bastuji, et S. Rossi. 2017. "Expérimentation visant à comparer le niveau d'innocuité du vaccin REV.1 conjonctival chez le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*) et la chèvre domestique (*Capra hircus*). ." : ONCFS (Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage).
- Quéméré, E., S. Rossi, Y. Game, E. Petit, M. Galan, J. Merlet, C. Toïgo, et E. Gilot-Fromont. 2018. "Bouquetins du Bargy et infection brucellique : que nous révèle la génétique ?" *Epidemiol et santé anim.* 74:17-24.
- Reiczigel, J., J. Foldi, et L. Ozsvári. 2010. "Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test." *Epidemiol Infect* 138 (11):1674-8. doi: 10.1017/s0950268810000385.
- Renoux, Gerard. 1960. "Immunisation des caprins et ovins contre la brucellose par un vaccin tué, en excipient huileux." *Rec. Méd. vét* 136 (281):60.
- Richomme, C., D. Gauthier, et E. Fromont. 2006. "Contact rates and exposure to inter-species disease transmission in mountain ungulates." *Epidemiol Infect* 134 (1):21-30. doi: 10.1017/s0950268805004693.
- Rossi, S., J. Hars, E. Petit, P. Marchand, A. Vaniscotte, S. Anselme-Martin, S. Lambert, C. Calenge, A. Greiller, B. Guyonnaud, Y. Game, G. Reynaud, E. Gilot, A. Thébault, C. Ponsart, E. Quéméré, J. Vernay, V. Lebourg, P. Poyet, J-Y. Chollet, et C. Toïgo. 2018. "Historique et évolution de la situation épidémiologique et populationnelle de la brucellose des bouquetins (*Capra ibex*) du massif du Bargy depuis 2012." *Epidémiol. et santé anim.* 74:7-8.
- Rossi, Sophie. 2005. "Le sanglier (*Sus scrofa* sp.) réservoir d'infections: analyse du risque de transmission de la peste porcine classique et de la brucellose du sanglier." Lyon 1.
- Roux, J. 1972. "Les vaccinations dans les brucelloses humaines et animales." *Bull. Inst. Pasteur* 70:145-202.

- Stüwe, Michael, et Carolyn Grodinsky. 1987. "Reproductive biology of captive Alpine ibex (*Capra i. ibex*)." *Zoo Biology* 6 (4):331-339.
- Tessaro, S. V. 1986. "The existing and potential importance of brucellosis and tuberculosis in canadian wildlife: a review." *Can Vet J* 27 (3):119-24.
- Toma, B., et J.P. Ganière. 2013. "De l'éradication à la réapparition des maladies infectieuses animales : définitions et bases des principaux concepts. ." *Epidemiol et santé anim.* 64:5-20.
- Verger, J. M., M. Grayon, E. Zundel, P. Lechopier, et V. Olivier-Bernardin. 1995. "Comparison of the efficacy of Brucella suis strain 2 and Brucella melitensis Rev. 1 live vaccines against a Brucella melitensis experimental infection in pregnant ewes." *Vaccine* 13 (2):191-6.
- Xie, J., J. Wang, Z. Li, W. Wang, Y. Pang, et Y. He. 2018. "Ontology-Based Meta-Analysis of Animal and Human Adverse Events Associated With Licensed Brucellosis Vaccines." *Front Pharmacol* 9:503. doi: 10.3389/fphar.2018.00503.
- Yang, X., J. A. Skyberg, L. Cao, B. Clapp, T. Thornburg, et D. W. Pascual. 2013. "Progress in Brucella vaccine development." *Front Biol (Beijing)* 8 (1):60-77. doi: 10.1007/s11515-012-1196-0.
- Zundel, E., J. M. Verger, M. Grayon, et R. Michel. 1992. "Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with Brucella melitensis Rev 1 vaccine: safety and serological responses." *Ann Rech Vet* 23 (2):177-88.

9.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES



Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE

Direction générale de l'alimentation
Service de l'action sanitaire en production primaire
Sous-direction de la santé et protection animales
Bureau de la santé animale
Suivi par : Lisa Cavalerie
Tél : 01 49 55 86 26
Réf. Interne : BSA/1712030

Le Directeur Général de l'Alimentation
Le Directeur Général de l'Aménagement,
du Logement et de la Nature

à

Direction générale de l'aménagement, du logement et
de la nature
Direction de l'eau et de la biodiversité
Sous-direction de la protection et de la restauration
des écosystèmes terrestres
Bureau de la chasse, de la faune et de la flore
sauvages
Suivi par : Laurence Giuliani
Tél : 01 40 81 35 62

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

Paris, le 22 JAN 2018

Objet : Saisine sur le déploiement de la vaccination des bouquetins du Bargy contre la brucellose

Conformément aux articles L. 1313-1 et 1313-3 du Code de la santé publique, nous avons l'honneur de solliciter l'avis de l'Anses afin de compléter l'évaluation des mesures de maîtrise du foyer de brucellose chez les bouquetins du Bargy, de façon à tenir compte des dernières informations disponibles concernant l'outil vaccinal.

I. Contexte

L'avis de l'Anses 2014-SA-0218 a comparé l'efficacité de plusieurs mesures de maîtrise de la brucellose chez les bouquetins du Bargy, dont la vaccination. D'après cet avis, l'association de la vaccination à différents scénarios de gestion sanitaire permettrait « d'améliorer l'efficacité de certains scénarios de base » et offrirait des perspectives d'éradication de la maladie, ce que les scénarios sans vaccination ne permettraient pas. Cependant, cet avis fait l'hypothèse « que les effets du vaccin seraient, en termes d'innocuité et d'efficacité comparables chez le bouquetin à ceux décrits chez la chèvre ». Or, l'absence de données disponibles sur ce sujet impliquait la persistance de « nombreuses incertitudes sur la pertinence d'une vaccination des bouquetins ». L'Avis recommandait ainsi « en préalable à toute éventuelle campagne de vaccination », « de conduire, *a minima*, des expérimentations destinées à vérifier la sensibilité du bouquetin des Alpes ».

En 2016, la DGAL a sollicité l'Anses et l'ONCFS pour « définir et évaluer bibliographiquement les critères préalables à une approche vaccinale contre la brucellose chez les bouquetins du Bargy ». Le rapport 2016-SA-0146 a conclu sur la recommandation de conduire une expérimentation permettant la « confirmation d'une innocuité équivalente du vaccin OVIREV® chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique et l'évaluation de la capacité de diffusion de la souche dans l'environnement ». Une étude expérimentale, cofinancée par le MAA et le MTES, a ainsi été conduite par un consortium ONCFS-INRA-MNHN-Anses entre octobre 2016 et juillet 2017, visant à comparer le niveau

d'innocuité du vaccin Rev.1 conjonctival chez le bouquetin des Alpes et la chèvre domestique. Le rapport de cette étude a été remis le 22 juillet 2017.

Afin de tenir compte des nouvelles données éco-épidémiologiques disponibles sur le foyer de brucellose chez les bouquetins du massif du Bargy, mettant notamment en évidence une sectorisation de la maladie au sein du massif, un scénario de gestion spatialisée a été proposé par le préfet de Haute-Savoie (tir des individus non marqués au statut indéterminé en zone de forte prévalence et abattage sélectif dans les secteurs de prévalence moindre). La DGAL et la DEB ont, en date du 2 mai 2017, sollicité à nouveau l'avis de l'Anses afin de disposer d'une évaluation approfondie et réactualisée de mesures de maîtrise du foyer de brucellose chez les bouquetins du Bargy sur la base de l'avis 2014-SA-0218 et en intégrant le nouveau scénario de gestion spatialisée proposé, ainsi que la question de la vaccination, en supposant que les travaux expérimentaux seraient favorables. L'Agence a rendu un nouvel avis en date du 14 septembre 2017 (2016-SA-0229).

Les experts ont examiné trois scénarios de gestion du foyer de brucellose (un scénario basé sur la surveillance sans action de gestion dans l'attente de données permettant de hiérarchiser les scénarios de gestion avec plus de certitude, le scénario de gestion proposé par le préfet de Haute-Savoie et un scénario alternatif basé sur un abattage sélectif en zone cœur). Les résultats de l'expérimentation sur l'innocuité du vaccin contre la brucellose chez le bouquetin n'étant pas disponibles au moment de l'évaluation, les experts n'ont pas inclus l'outil vaccinal dans les scénarios évalués. Cet avis conclut sur un niveau d'incertitudes « très élevé », qui n'a « pas permis la hiérarchisation des scénarios proposés ».

II. Évaluation demandée

La présente saisine porte sur une évaluation complémentaire à la réponse apportée par la saisine n°2016-SA-0229 prenant en compte les résultats de l'expérimentation vaccinale réalisée fin 2016-début 2017.

Les résultats de cette nouvelle expertise devront permettre de répondre aux questions suivantes :

- En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ?
- Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué ?

Nous vous remercions de bien vouloir accuser réception de la présente demande. Une réponse est attendue pour mai 2018.

Le Directeur général de l'alimentation



Patrick DEHAUMONT

Le Directeur général de l'aménagement,
du logement et de la nature



Paul DELDUC

Annexe 2 : Présentation des positions divergentes pour le chapitre 7 de réponse aux questions de la saisine.

Contribution de M. Jacques GODFROID

Question 1 : En tenant compte des résultats de l'étude vaccinale et des modalités possibles de son déploiement, quelle est la probabilité de pouvoir éradiquer la circulation de l'infection chez le bouquetin, en développant un scénario basé sur la vaccination ?

Réponse 1 : « *L'étude expérimentale ne permet pas de répondre à cette question car elle a été mise en œuvre afin de vérifier l'innocuité de Rev.1 chez le bouquetin. L'étude suggère que chez le bouquetin, la souche vaccinale Rev.1 persiste plus longtemps à des niveaux bactériologiques (CFUs) plus élevés que chez la chèvre (Higgins, Gonzalez-Juarrero, et Bowen 2017). Les réponses immunitaires chez le bouquetin ne permettent pas le contrôle de la souche vaccinale comme chez la chèvre. Une étude d'efficacité vaccinale n'étant pas envisageable, il y a lieu de faire référence à d'autres travaux sur l'infection brucellique et sur l'évaluation des vaccins anti-brucelliques dans la faune sauvage. Dans ce cadre le document « Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area (GYA) » édité par la « National Academy of Science, USA » est la référence scientifique la plus récente et la plus complète (National Academies of Sciences et Medicine 2017). Ce rapport porte sur l'infection à *Brucella abortus* chez le cerf wapiti (*Cervus canadensis*) et le bison (*Bison bison*) et la maîtrise du risque de transmission de *B. abortus* aux troupeaux de bovins, indemnes de brucellose pâturant à proximité ou partageant les mêmes pâtures que les cerfs et les bisons.*

*Lors des réunions du GT, il a été objecté que le cerf et le bison sont génétiquement moins proches du bouquetin que la chèvre, rendant la comparaison bison-cerf/bouquetin moins valide que la comparaison chèvre/bouquetin. De plus, il a été objecté qu'il s'agit chez le cerf et le bison d'infections à *B. abortus*. Ceci ne sont selon moi, pas des arguments scientifiquement valables pour la raison suivante : la pertinence de la comparaison cerf-bison/*B. abortus* et bouquetin/*B. melitensis* est à trouver dans l'identification des facteurs de virulence communs à toutes les espèces de *Brucella* « smooth » pathogènes, à la pathogénicité similaire de toutes les *Brucella* « smooth » pathogènes, ainsi qu'à la pathologie induite pour leur(s) espèce(s) préférentielle(s) (Byndloss et Tsolis 2016).*

*Les experts ayant rédigé le rapport GYA recommandent de ne plus parler d'éradication car ceci est un objectif irréaliste que ce soit en développant un scénario incluant la vaccination ou non. Ils prônent une gestion adaptative permettant le contrôle de l'infection chez la faune sauvage, dont le but principal est d'éviter la transmission aux bovins trouvant depuis une vingtaine d'années son origine dans la population de cerfs infectés plutôt que les bisons infectés. Le focus du rapport est donc mis sur l'infection à *B. abortus* du cerf. Les auteurs du ce rapport sont arrivés à la conclusion qu'ils ne pouvaient pas recommander la vaccination du cerf (avec le vaccin « bovin » S19), car après plus de 40 ans d'expérimentation in natura, aucune baisse de la prévalence de l'infection n'a pu être démontrée suite à la vaccination³⁶ (Maichak et al. 2017).*

³⁶ Dans le document GYA, la publication centrale relative à l'efficacité du vaccin S19 chez le cerf à laquelle il est fait référence, est celle de (Maichak et al. 2017). En parcourant le document GYA, vous verrez des citations "Maichack et al. 2017" aux pages 69, 71, 89, 106, 138 et 170. En particulier :

- p.69: "Overall, S19 vaccination is considered to be inadequate for generating protective immunity in elk in the GYA."

- p.138: "Vaccination has long been viewed as the holy grail of elk brucellosis management, but an effective vaccine for elk does not yet exist and may not exist for some time..."

- p.170: "The conclusion that S19 vaccination is of marginal value in reducing seroprevalence in feedground elk..."

Dans la section "Overall findings, Conclusions and Recommendations", pour chaque mesure de management, la structure du document GYA est:

1. Conclusions, sur base des données de la littérature

2. Recommandations, sur base de l'analyse des données de la littérature

Pour la vaccination (p.178), le comité n'a pas fait de recommandation

Par ailleurs, il est utile de rappeler qu'aucun vaccin anti-brucellique pour la faune sauvage n'existe à l'heure actuelle ».

Question 2 : Quels sont les risques et bénéfices des scénarios de gestion avec ou sans vaccination en particulier en matière d'innocuité de l'outil vaccinal pour l'Homme et l'animal et de persistance de la bactérie dans la faune sauvage, y compris à partir du vaccin vivant atténué?

Réponse 2 : *« Comme dûment documenté dans le rapport, les risques d'innocuité de Rev.1 pour l'homme, lors d'une utilisation éventuelle chez le bouquetin, sont comparables aux risques liés à la vaccination et aux manipulations d'animaux domestiques vaccinés.*

Pour les ruminants domestiques, les risques sont minimes. Pour la faune sauvage, un risque existe vu le degré d'incertitude important. L'essai de vaccination expérimentale du bouquetin documente une pathogénicité résiduelle de Rev.1 plus importante chez le bouquetin que chez la chèvre. Il est spéculatif de préjuger de la pathogénicité résiduelle de Rev.1 chez les autres espèces sauvages, et partant de sa transmission et de son excrétion dans le milieu. Cependant, la persistance de Rev.1 dans le milieu sera a maxima comparable à la persistance de B. melitensis dans le milieu extérieur.

La vaccination comme outil de contrôle de la brucellose pour les animaux domestiques et pour la faune sauvage devra être utilisée en complément d'autres outils de gestion, pendant des temps longs. Il est utile de rappeler que plusieurs décennies de vaccination ont été nécessaires afin d'éradiquer la brucellose des petits ruminants en France et que plus de 40 ans de vaccination du cerf avec le vaccin S19 (ayant montré une efficacité en infection expérimentale chez le cerf contre B. abortus) n'a pas permis de diminuer la prévalence de l'infection chez le cerf dans le GYA.

Par ailleurs, ce rapport indique qu'il est trop tôt pour pouvoir juger si les actions sanitaires entreprises depuis 2013 ont pu baisser de façon significative la prévalence de la brucellose chez le bouquetin, bien qu'une tendance en ce sens existe. De plus, le nombre de campagnes de vaccination nécessaires pour atteindre un objectif de contrôle chez le bouquetin n'a pas été analysé par le GT et n'est pas mentionné dans le rapport.

Dès lors une analyse coût/bénéfice de la vaccination n'est pas possible à l'heure actuelle et toute vaccination entraînant une montée en anticorps post-vaccinaux, compromettrait toute analyse de l'efficacité (baisse de la prévalence telle que mesurée par la détection d'anticorps) des mesures prises jusqu'à ce jour.

Les réponses aux questions 1 et 2 supra conduisent à considérer que le recours à l'outil vaccinal (OCUREV® à raison de 1-2 109 UFC/dose, administré par instillation conjonctivale, dans la situation actuelle de l'infection dans la population de bouquetins), ne peut être recommandé.

Références bibliographiques :

- Byndloss M.X., Tsolis R.M. *Brucella* spp. 2016. Virulence Factors and Immunity. Annu Rev Anim Biosci. 4:111-27. doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111326.
- Higgins J.L., Gonzalez-Juarrero M., Bowen R.A. 2017. Evaluation of shedding, tissue burdens, and humoral immune response in goats after experimental challenge with the virulent *Brucella melitensis* strain 16M and the reduced virulence vaccine strain Rev.1. PLoS One. Oct 13;12(10):e0185823. doi: 10.1371/journal.pone.0185823. eCollection 2017.
- Maichak, E.J., B.M. Scurlock, P.C. Cross, J.D. Rogerson, W.H. Edwards, B. Wise, S.G. Smith, and T.J. Kreeger. 2017. Assessment of a strain 19 brucellosis vaccination program in elk. Wildlife Society Bulletin 41:70-79

- National Academies of sciences, engineering and medicine, 2017 – Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area. The National Academies Press. 209 pages.

Annexe 3 - Etudes expérimentales relatives à l'efficacité de la vaccination avec la souche REV.1 chez la chèvre répertoriées dans la bibliographie

	Animaux (Chèvres)	Vaccination (Souche vaccinale REV.1)	Epreuve virulente (<i>B. melitensis</i>)	Infection	Avortement	Excrétion
(Elberg et Faunce 1957)	Chèvres Angora de 4-5 ans mises à la reproduction 2 mois après la vaccination et suivies jusqu'à la mise-bas (euthanasiées 2-3 j après mise bas ou avortement)	13 chèvres vaccinées par voie SC ($1,5 \cdot 10^9$ UFC)	En cours de gestation Inoculation SC $8,3 \cdot 10^5$ UFC	0/13 chèvre infectée (contrôle après mise-bas)	0 avortement 0 fœtus infecté	Pas d'isolement bactérien dans le placenta
		12 chèvres témoins non vaccinées	14 semaines après vaccination	10/13 chèvres infectées (contrôle de tissus après mise-bas)	10 avortements avec fœtus infectés 1 chevreau infecté	Isolement bactérien dans le placenta des chèvres avortées
(Elberg 1959)	Chèvres 11-18 mois d'âge non gestantes	31 chèvres vaccinées par voie SC ($1 \cdot 10^9$ UFC)	Inoculation $9,5 \cdot 10^6$ (n=11), $9,5 \cdot 10^7$ (n=10), et $9,5 \cdot 10^8$ (n=10) UFC 12 à 14 semaines près vaccination	Infection chez 1/11 (9%), 4/10 (40%) et 5/10 (50%)	NT	NT
		23 chèvres témoins non vaccinées	Inoculation $9,5 \cdot 10^4$ (n=10), $9,5 \cdot 10^5$ (n=7), et $9,5 \cdot 10^6$ (n=6) UFC	Infection chez 7/10 (70%), 5/7 (71%) et 6/6 (100%)		
(Alton 1966, 1967)	Chèvres Maltaises suivies pendant 3 à 5 ans jusqu'à leur mise-bas (euthanasiées 2 semaines après mise bas ou avortement)	2 x 25 chèvres vaccinées, par voie SC entre 3 et 7 mois , ($1,5 \cdot 10^9$ UFC)	En cours de gestation Infection 2,5 et 4,5 années après vaccination par exposition à des femelles précédemment inoculées ($1,2 \cdot 3,8 \cdot 10^{10}$ UFC) en cours de gestation qui avortent 1 à 2 mois après	0 et ~ 8% infection généralisée à 2,5 et 4,5 ans (contrôle après mise-bas)	0 avortements à 2,5 et 4,5 ans	~ 0,5 et ~ 5% (lait, placenta, sécrétion vaginales) à 2,5 et 4,5 ans
		2 x 25 chèvres témoins non vaccinées		~ 55 et ~ 84% infection généralisée à 2,5 et 4,5 ans (contrôle après mise-bas ou avortement)	~ 45 et ~ 42% d'avortements à 2,5 et 4,5 ans	~ 68 et ~ 84% (lait, placenta, sécrétion vaginales) à 2,5 et 4,5 ans
(Morgan et al. 1966)	Chèvres adultes non gestante (euthanasiées 4 semaines après EV)	44 chèvres vaccinées, par voie SC ($1,5 \cdot 10^9$ UFC)	En cours de gestation Voie conjonctivale 16 V et 13 T : $8,5 \cdot 10^3$ UFC 13 V et 15 T : $8,5 \cdot 10^6$ UFC 15 V et 14 T : $8,5 \cdot 10^7$ UFC 16 semaines après vaccination	28 /44 infectées dont 8 généralisées (non inf. : 16/44)	NT	NT
		42 chèvres témoins non vaccinées		28 /42 infectées dont 23 généralisées (non inf. : 14/42)	NT	NT

	Animaux (Chèvres)	Vaccination (Souche vaccinale REV.1)	Epreuve virulente (<i>B. melitensis</i>)	Infection	Avortement	Excrétion
(Gaumont, Trap, et Dhennin 1978)	Chères Alpines mises en reproduction à 11-12 mois (euthanasiées 6-8 semaines après EV)	24 chèvres vaccinées, par voie SC à 9 mois ($1,5 \cdot 10^9$ UFC)	En cours de gestation dans les 40 premiers jours de gestation (92 % de gestantes) Voie conjonctivale $2 \cdot 10^5$ UFC 111 jours après vaccination	3/24 infectées	0/22 avortement	2/22 (liquides fœtaux et/ou colostrum)
		12 chèvres témoins non vaccinées		8/12 infectées	5/11 avortements	7/11 (liquides fœtaux et/ou colostrum)
(Fensterbank, Verger, et Grayon 1987)	Chèvres adultes mises en reproduction à 9,5 mois ; (euthanasiées 4-6 semaines après mise-bas ou avortement ou 72 j après EV si non gestantes)	Chèvres vaccinées à 4 mois d'âge, 15 en SC : $1,1 \cdot 10^9$ UFC 30 par voie oculaire : 15 : $1,1 \cdot 10^7$ UFC 15 : $1,1 \cdot 10^9$ UFC	En cours de gestation Voie conjonctivale $5,1 \cdot 10^6$ UFC à 12,5 mois d'âge à 88-89 jours de gestation 8,5 mois après vaccination	19/29 gestantes et 4/13 non gestantes infectées	10 avortements et 1 mort-né sur 29 gestantes	8 femelles avortées et 2 à termes excrétrices (lait, placenta, sécrétion vaginales)
		15 chèvres témoins non vaccinées		8/8 gestantes et 2/2 non gestantes infectées	8 avortements sur 8 gestantes	Toutes les femelles avortées sont excrétrices (lait, placenta, sécrétion vaginales)

Annexe 4 : Glossaire

- **Termes relatifs à l'épidémiologie, la pathogénie et l'immunologie de la brucellose**

Excréteur : un animal excréteur est contagieux quand la situation le permet : si l'animal participe au rut, avorte de la brucellose, met bas ou allaite.

Symptomatique : visiblement affecté par une boiterie liée à la brucellose

Séropositif : résultat sérologique uniquement basé sur confirmation par un des 4 tests pratiqué en laboratoire : Rose-Bengale (EAT), Fixation du Complément, ELISA indirect ou de compétition.

Avortement brucellique : avortement lié à la brucellose avec expulsion d'un avorton fortement contaminé dans le milieu et des écoulements vaginaux infectieux jusqu'à la fermeture du col.

Lot de semence : culture de microorganismes ou de cellules destinée à être utilisée dans la production de vaccin

Mise bas brucellique : mise bas avec produits de parturition et des écoulements vaginaux infectieux jusqu'à la fermeture du col utérin.

Pathogénicité : capacité d'un microorganisme de provoquer un effet négatif sur la santé, en interaction avec l'hôte

Transmission verticale : transmission d'un agent pathogène d'un parent à un descendant à l'occasion de la reproduction (*in utero*)

Transmission horizontale directe : transmission d'un agent pathogène d'un individu l'hébergeant à un autre, indépendante des liens de parenté, et sans intermédiaire (inclut par exemple la transmission par contact, la transmission sexuelle, la transmission par exposition à un aérosol infectieux, etc.).

Transmission horizontale indirecte : transmission d'un agent pathogène d'un individu l'hébergeant à un autre, avec intermédiaire, par exemple par un sol souillé.

Virulence : caractéristique intrinsèque de la souche génétiquement déterminée, conditionnant sa capacité à se multiplier et persister *in vivo* (Plommet, 1995)

- **Termes issus de l'écologie et de la dynamique des populations**

Densité-dépendance : Processus rétro-actif décrivant la diminution du taux de croissance d'une population lorsque sa densité augmente, et par extension, toute diminution de traits d'histoire de vie mesurant la performance individuelle.

Durée de génération : âge moyen des mères (i.e. femelles mettant bas) pondéré par le nombre de jeunes produits à la naissance.

Etagne : : femelle de bouquetin.

Eterlou : mâle bouquetin entre un et deux ans d'âge, aussi appelé « yearling ».

Méthode de Capture-Marquage-Recapture (CMR) : procédure statistique permettant de prendre en compte le processus de détection imparfaite (i.e. probabilité de détecter un individu inférieure à 1). Ces méthodes reposent sur la construction d'un échantillon de référence de la population (animaux « marqués » incluant des individus identifiables à chaque détection. Ces méthodes permettent alors des estimations non biaisées des paramètres démographiques et des probabilités de détection en fonction de nombreux facteurs de variation (e. g. âge, sexe, années, habitat, ...). Par extension, ces méthodes permettent aussi d'estimer l'effectif des populations.

Patron de reproduction : En écologie et dans le domaine de la biologie de la conservation, on utilise le terme anglais « pattern », que l'on traduit par « patron » dans une acception inspirée de la couture (où un patron désigne un modèle, un plan, qui sert de référence), pour décrire des structures écopaysagères, spatiales ou spatiotemporelles, ou encore des processus écologiques, qui interviennent de façon récurrente :

- patron paysager ou écopaysager (dans le domaine de l'écologie du paysage)

- patron de diversité ou de biodiversité

Population : ensemble d'individus appartenant à la même espèce en interaction, susceptibles de se reproduire entre eux, occupant une aire géographique commune et jouant un rôle particulier dans un écosystème.

Population en régime de colonisation : population à faible effectif par rapport à la disponibilité des ressources. Une telle population montre un taux d'accroissement naturel proche du maximal pour l'espèce (r-max, Caughley (1977)). Chez les grands mammifères, elle se caractérise par un âge de première reproduction des femelles acquis précocement (âge à la maturité sexuelle de l'espèce), une structure d'âge jeune avec une forte proportion d'individus recrutés et une faible proportion de vieux individus, et une durée de génération relativement courte.

Population en régime de saturation : population à fort effectif par rapport à la disponibilité des ressources. Cela se traduit par un ralentissement de la croissance (voir une croissance nulle ou une décroissance ponctuelle). Chez les grands mammifères, elle se caractérise par un âge retardé de la première reproduction des femelles, une structure d'âge décalée vers les vieux individus avec une faible proportion d'individus recrutés et une forte proportion de vieux individus, et une durée de génération relativement longue.

Productivité des femelles par classe d'âge : rapport du nombre de femelles ayant un jeune (ici au 1er décembre) sur le nombre de femelles par classe d'âge considéré. Femelle ayant mis bas et dont le cabri a survécu jusqu'en décembre.

Taux de reproduction/multiplication : voir productivité des femelles

Annexe 5 : Analyse statistique des résultats du suivi sanitaire des bouquetins du Bargy

Populations	Comparaison	Test 1* P significativité Chi2 ou Fisher exact (petits effectifs)	Test 2 : Test « Estimation of the true prevalence » (Se : 0.87 - Sp : 0.978)
Non marqués	Zone Cœur avant / après 2016	2,5.10 ⁻²	0.577 (0.488 to 0.662) / 0.351 (0.211 to 0.516) NS
	Zone périphérie avant / après 2016	4,45.10 ⁻¹	0.017 (0 to 0.175) / 0.038 (0 to 0.19) NS
	Zone cœur /périphérie avant 2016	7.10 ⁻⁹	0.577 (0.488 to 0.662) / 0.017 (0 to 0.175) /
	Zone cœur / périphérie Après 2016	1,2.10 ⁻²	0.351 (0.211 to 0.516) / 0.038 (0 to 0.19) /
Marqués	Zone Cœur avant / après 2016	6.10 ⁻¹	0.083 (0 to 0.283) / 0.351 (0.211 to 0.511) NS
	Zone périphérie avant / après 2016	1	0.21 (0 to 0.749) / 0 (0 to 0.564) NS
	Zone cœur/périphérie avant 2016	4,4.10 ⁻¹	0.083 (0 to 0.283) / 0.21 (0 to 0.749) NS
	Zone cœur / périphérie Après 2016	1	0.351 (0.211 to 0.511) / 0 (0 to 0.564) NS
Marqués & non marqués	Non marqués / marqués avant 2016 en zone cœur	2.10 ⁻⁴	0.577 (0.488 to 0.662) / 0.083 (0 to 0.283)
	Non marqués / marqués après 2016 en zone cœur	3.10 ⁻³	0.351 (0.211 to 0.516) / 0.351 (0.211 to 0.511) NS
	Non marqués / marqués avant 2016 en zone périphérie	4,9.10 ⁻¹	0.017 (0 to 0.175) / 0.083 (0 to 0.283) NS
	Non marqués / marqués après 2016 en zone périphérie	1	0.038 (0 to 0.19) / 0 (0 to 0.564) NS

*Pour le test 1, sensibilité et spécificité = 1

NS : non significatif, d'après (Reiczigel, Foldi, et Ozsvari 2010)

En préambule, il convient de souligner que cette analyse statistique :

- N'est pas ajustée sur l'âge des individus ni sur les secteurs à l'intérieur de la zone cœur ou périphérique ;
 - Ne tient pas non plus compte, pour les individus marqués, de la durée de la période entre capture et recapture
- Interprétation statistique :
- Selon le test 1, les comparaisons de séroprévalence surlignées en gris présentent une différence statistique significative :
 - séroprévalence des animaux non marqués statistiquement différente pour la zone cœur, entre les deux périodes 2013-2015 / 2016-2018 ;
 - séroprévalence des animaux non marqués statistiquement différente entre zone cœur et zone périphérique pour la période 2013-2015 ;
 - séroprévalence des animaux non marqués statistiquement différente entre zone cœur et zone périphérique pour la période 2016-2018 ;
 - séroprévalence statistiquement différente entre animaux marqués et animaux non marqués en zone cœur pour la période 2013-2015 ;

- séroprévalence statistiquement différente entre animaux marqués et animaux non marqués en zone cœur pour la période 2016-2018.

Les autres comparaisons ne présentent pas de différence significative, soit en raison du manque de puissance du test lié au faible effectif de ces animaux, soit en raison d'une absence réelle de différence de séroprévalence.

- Selon le test 2, les comparaisons de séroprévalence suivantes présentent une différence statistique significative :
 - séroprévalence des animaux non marqués statistiquement différente entre zone cœur et zone périphérique pour la période 2013-2015 ;
 - séroprévalence des animaux non marqués statistiquement différente entre zone cœur et zone périphérique pour la période 2016-2018 ;
 - séroprévalence statistiquement différente entre animaux marqués et animaux non marqués en zone cœur pour la période 2013-2015.

Annexe 6 : Incertitudes liées à la présente expertise

Etape de l'expertise	Description de l'incertitude	Impact sur les conclusions
Bilan des données de suivi populationnel	Les données de suivi, relatives à l'aptitude à la reproduction des femelles, transmises au GT étaient encore peu nombreuses et incomplètes (ne portant que sur une fourchette d'âge partielle).	Difficulté à estimer avec précision l'existence ou non d'une reprise démographique dans le massif du Bargy, suite aux opérations de gestion. → Les prévisions en matière d'évolution de la prévalence de l'infection, en fonction d'une éventuelle reprise démographique sont marquées par cette incertitude.
Bilan des données de suivi sanitaire dans la population de bouquetins	Les données de suivi sanitaire des années 2016-2017-2018 n'ont pas pu être transmises dans les temps pour le GT, contrairement aux prévisions indiquées dans le contrat d'expertise. Le GT n'a pu disposer que d'informations partielles transmises au travers des auditions.	Difficulté à évaluer l'évolution de la séroprévalence au cours du temps et à estimer la situation sanitaire actuelle. → Les conclusions du GT sur l'utilisation du vaccin reposent en partie sur une <u>hypothèse</u> d'amélioration actuelle de la situation sanitaire. Cette incertitude impacte donc fortement les conclusions.
	Le très faible effectif des captures d'animaux marqués empêche d'avoir une estimation de l'incidence de l'infection dans la population (estimation par capture-marquage-recapture).	L'absence de connaissance sur l'incidence de l'infection ne permet pas de savoir si l'amélioration actuelle apparemment constatée est le simple résultat mécanique de l'euthanasie des animaux séropositifs ou si la dynamique de l'infection est elle aussi diminuée. → Les prévisions en matière d'évolution de l'infection sont marquées par cette incertitude. Les conclusions du GT sur l'utilisation du vaccin reposent en partie sur une <u>hypothèse</u> d'amélioration actuelle de la situation sanitaire. Cette incertitude impacte donc fortement les conclusions.
Données sur l'innocuité du vaccin chez le bouquetin	Les résultats de l'expérimentation vaccinale menée chez le bouquetin posent les questions suivantes : - Quel est l'impact, de la situation de promiscuité des bouquetins détenus durant l'expérimentation et du stress lié à la détention, sur les résultats ? - Comment évoluent les indicateurs mesurés chez les bouquetins au-delà de la durée de 90 jours de l'expérimentation (notamment la persistance de la souche vaccinale dans les organes des bouquetins) ?	- L'extrapolation des données d'expérimentation à une situation de vaccination <i>in natura</i> est limitée par cette incertitude : le risque y serait-il aussi important que dans la situation expérimentale ? - L'absence de connaissance documentée sur l'évolution des indicateurs au-delà des 90 jours d'expérimentation, conduit les experts à donner leur « avis d'expert », qui ne converge pas totalement. → Le GT n'a pas été en capacité de fournir un avis convergent sur tous les points du rapport, en l'absence de connaissance suffisante sur l'innocuité du vaccin
Données sur l'efficacité du vaccin chez le bouquetin	L'expérimentation vaccinale chez le bouquetin n'avait pas pour objet d'évaluer l'efficacité du vaccin. La bibliographie scientifique ne présentant aucun élément relatif à cette question, les experts n'ont disposé d'aucun élément sur l'efficacité du vaccin dans cette espèce. Les experts ne pouvaient alors raisonner que par analogie, soit vis-à-vis d'espèces proches domestiques (chèvre/bouquetin), soit vis-à-vis d'autres espèces sauvages, contaminées par une autre <i>Brucella</i> .	Le débat des experts sur les possibilités d'extrapolation de résultats d'efficacité vaccinale à partir d'autres espèces n'a pas abouti au consensus. → Le GT n'a pas été en capacité de fournir un avis convergent sur tous les points du rapport, en l'absence de connaissance suffisante sur l'efficacité du vaccin. Cette incertitude impacte la conclusion, notamment en matière de perspective d'utilisation du vaccin dans une situation sanitaire différente que celle aujourd'hui constatée.



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
F94701 Maisons-Alfort cedex
www.anses.fr
[@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)