

23èmes Rencontres du Groupe d'études sur l'écopathologie de la faune sauvage de montagne (G.E.E.F.S.M.) 27 au 29 mai 2005 Andorre

Séro-surveillance de la brucellose chez les sangliers et les porcs d'élevage en plein air en Suisse

C. Köppel¹, L. Knopf¹, R. Miserez², et M.-P. Ryser-Degiorgis³

1) Office vétérinaire fédéral, Section Monitoring, Schwarzenburgstrasse 155, CH-3003 Berne, Suisse

2) Centre pour les Zoonoses, les maladies animales bactériennes et la résistance antibiotique (ZOBA), Institut de Bactériologie vétérinaire, Faculté Vetsuisse, Université de Berne ; Boîte postale, CH-3001 Berne, Suisse

3) Centre pour la Médecine des Poissons et des Animaux sauvages, Institut de Pathologie animale, Faculté Vetsuisse, Université de Berne, Boîte postale, CH-3001 Berne, Suisse

Résumé : Un accroissement continu de la population de sangliers en Suisse ces dernières années et l'augmentation parallèle des exploitations porcines en plein air dans le nord du pays, a pour effet de favoriser les risques de transmission de maladies contagieuses entre les sangliers et les porcs domestiques. Une première étude sur la brucellose de 2001 à 2003 a confirmé la présence de cette infection chez les sangliers. L'objectif principal de cette seconde étude est de suivre l'évolution de la brucellose chez le sanglier ainsi que d'évaluer les éventuels risques liés à leurs interactions avec les porcs élevés en plein air. En 2004, des échantillons de sang de 530 sangliers et 62 porcs domestiques ont été prélevés et analysés sérologiquement pour *Brucella*. Les résultats préliminaires de cet échantillonnage indiquent une prévalence moyenne de 14% pour *Brucella* chez les sangliers, confirmant ainsi la séro-prévalence élevée pour la brucellose chez cette espèce dans les régions suisses investiguées depuis 2001. Chez les porcs d'élevage en plein air, les résultats indiquent en revanche une prévalence faible, probablement nulle. Les risques d'infection de porcs liés à la présence de sangliers infectés semblent en effet relativement faibles à l'heure actuelle. Le développement de nouveaux instruments de diagnostic et la mise en place d'un système sentinelle pour les porcs en plein air permettrait cependant de pouvoir mieux évaluer les risques de transmission.

Mots clés : brucellose, contacts interspécifiques, porc domestique, risque, sanglier, sérologie, Suisse

Introduction :

Depuis plusieurs années, on observe une croissance continue de la population de sangliers (*Sus scrofa*) en Suisse. Parallèlement, on note également une croissance nette du nombre d'exploitations de porcs (*Sus scrofa domestica*) élevés en plein air. Ceci a pour conséquence une augmentation des risques de contacts entre espèces sauvages et domestiques. De tels contacts interspécifiques ont en effet déjà été observés, en France (S. Rossi, comm. pers.) comme en Suisse (M. Baumann, comm. pers.) et représentent un risque potentiel quant à la transmission d'agents pathogènes entre le sanglier et le porc domestique. Un tel scénario de transmission interspécifique de la brucellose entre sanglier et porc a en effet été documenté en France à plusieurs reprises (S. Rossi, comm. pers.).

En Suisse, le porc domestique est actuellement officiellement libre de brucellose. Dans différents pays d'Europe, les séro-prévalences pour la brucellose chez le sanglier sont cependant relativement élevées : on parle de plus de 30% dans certaines régions de France (S. Rossi, comm. pers.), de 29% en Croatie (Cvetnic et al., 2003) de 17% en Espagne (F. Ruiz-Fons, comm. pers.) et 10% au nord de l'Italie (Gennero et al., 2005). L'inclusion des animaux sauvages dans les programmes de surveillance des maladies contagieuses des animaux domestiques est maintenant recommandée internationalement. L'Office vétérinaire fédéral

a ainsi décidé de mettre en place en Suisse un programme de surveillance pour les épizooties susceptibles d'atteindre le sanglier, dont la brucellose.

Une première étude, réalisée par R. Leuenberger (2004) dans les régions du nord et nord-ouest de la Suisse ainsi que dans le sud (canton du Tessin) de 2001 à 2003, a révélé une séro-prévalence moyenne pour la brucellose de 6% (95% CI 4.8%-7.3%) et 14% (95% CI 13.0%-15.2%) chez le sanglier durant les saisons de chasse de 2001/02 et 2002/03 respectivement. De plus, *Brucella* a été isolée en culture chez six animaux analysés. Ces résultats ont non seulement démontré la présence de la brucellose chez les sangliers en Suisse, mais ont aussi révélé une apparente augmentation de la séro-prévalence. L'objectif principal de cette seconde étude était de suivre l'évolution de la séro-prévalence de la brucellose chez le sanglier afin de voir si l'augmentation se poursuit. De plus, nous voulions déterminer la séro-prévalence chez les porcs élevés en plein air dans la zone à sangliers afin d'évaluer les conséquences sanitaires actuelles dues à d'éventuelles interactions entre sangliers et porcs domestiques.

Matériel et méthodes :

Sangliers :

Les régions d'étude sont identiques à celles de l'étude précédente (R. Leuenberger, 2004) : elles correspondent aux zones avec forte présence de sangliers (Fig. 1).



Figure 1 : Carte de la Suisse. Les aires d'étude sont colorées en gris. La provenance des sangliers séropositifs est marquée d'un triangle noir, celle des sangliers séronégatifs d'un point blanc. La taille des points blancs est proportionnelle au nombre des résultats. Les résultats vont de 1 à 8 par endroit.

La barrière géographique formée par l'arc alpin empêche tout échange entre les populations du nord et du Sud de la Suisse, hypothèse confirmée par des analyses démontrant que ces deux populations sont génétiquement distinctes (Boudry and Neet, 2001). Les régions d'étude sont également des zones frontalières avec la France (nord/ouest) et l'Italie (sud).

La taille de l'échantillon a été déterminée à l'aide des données de la statistique nationale de la chasse (OFEFP, www.umwelt-schweiz.ch). Grâce à la collaboration des chasseurs, 80 à 90 échantillons de sang ont été prélevés par région administrative (canton). Les prélèvements ont eu lieu lors de la période de chasse 2004/05, soit du mois d'août 2004

jusqu'à la fin du mois de février 2005. L'âge des sangliers a été estimé sur la base de leur dentition. Le sang a été prélevé dans la cage thoracique, aussi vite que possible après le tir. Dans la mesure du possible, des organes génitaux ont également été collectés. Les prélèvements ont été soit personnellement portés au laboratoire, soit envoyés par express.

Porcs domestiques :

Les exploitations de porcs élevés en plein air ont été sélectionnées d'après les critères suivants: 1) situation en zone de forte présence de sangliers au sein de la région d'étude, 2) pratique de l'élevage en plein air toute l'année et 3) disponibilité des éleveurs pour compléter un questionnaire épidémiologique, la participation à l'étude n'étant pas obligatoire. Les données ont été traitées anonymement.

La taille de l'échantillon par élevage a été fixée à un minimum afin de garantir la collaboration des éleveurs. Ce minimum correspondait au nombre d'échantillons de sang nécessaires pour pouvoir contrôler si la population de porcs formée par ces exploitations était encore libre de brucellose. Pour les élevages de un à 10 porcs, un seul échantillon a été prélevé ; pour les élevages de plus de dix animaux, au moins cinq échantillons de sang ont été collectés.

Les échantillons ont été prélevés à l'abattage pour les animaux d'engraissement et par prise de sang dans la veine jugulaire chez les animaux reproducteurs. Dans une exploitation de porcs d'engraissement, les organes génitaux de cinq animaux abattus ont été prélevés également. Tous les échantillons ont été immédiatement remis au laboratoire.

Sérologie :

Tous les échantillons de sang ont été centrifugés immédiatement après réception . Le sérum a ensuite été congelé à -20°C jusqu'à l'analyse. Tous les sérums ont été analysés au moyen d'un test ELISA indirect pour la recherche d'anticorps anti-*Brucella* (Dr. Bommeli AG, Suisse). Pour les porcs domestiques, les résultats positifs ont encore été testés par la réaction de fixation du complément (RFC) et la séro-agglutination (SA) selon les méthodes recommandées par l'OIE. Ces tests additionnels n'ont cependant pas pu être utilisés pour les sérums de sangliers à cause de la qualité médiocre des échantillons (hémolyse, contamination bactérienne).

Bactériologie :

Les échantillons d'organes issus de 10 sangliers et 5 porc domestiques ont été congelés à -20°C jusqu'à analyse. Le matériel a été inoculé sur gélose *Brucella Anaerobe* (BioMérieux) et gélose au sang de mouton (Oxoid) et incubé 5 jours à 37°C en atmosphère 5% CO_2 . De plus, le matériel a été inoculé dans du Bouillon *Brucella* (Difco) et incubé 5 jours à 37°C en milieu aérobie pour enrichissement. Les bouillons ont été repiqués sur gélose au sang de mouton et incubés 5 jours à 37°C en atmosphère 5% CO_2 . Pour le diagnostic de *Yersinia* spp., le matériel a été inoculé (i) sur gélose de *Yersinia* sélective medium (CIN, Oxoid) et incubé 5 jours à 25°C en milieu aérobie, et (ii) sur gélose Bromthymolbleu-lactose (BROLAC, BioMérieux) et incubé 5 jours à 37°C en condition aérobie.

Résultats :

Sangliers :

Un total de 530 échantillons de sang et 10 organes génitaux ont pu être prélevés. Le sang provenait de 261 femelles et 230 mâles, et 39 échantillons sont arrivés sans indication du sexe de l'animal concerné. Quelques échantillons provenaient de régions avoisinant l'aire d'étude. Le Test ELISA indirect a révélé une prévalence moyenne de 14%. La distribution des positifs au sein des classes d'âge et des deux sexes est à peu près équilibrée. La prévalence augmente avec l'âge, la différence étant particulièrement marquée entre les animaux de moins d'un an et les classes plus âgées (Fig. 2). Les positifs sont distribués sur toute la zone à sanglier au nord-ouest, tandis qu'un seul animal positif a été détecté au sud des Alpes (Fig. 3). Les examens bactériologiques des organes génitaux n'ont révélé aucune *Brucella* ni *Yersinia*.

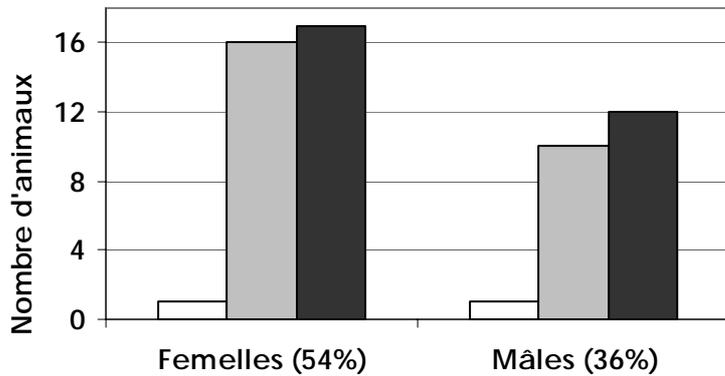


Figure 2 : Sangliers séropositifs : Distribution en fonction du sexe et de l'âge. Blanc : animaux de moins d'un an (3%) ; Gris : animaux âgés de 1 à 2 ans (41%) ; Noir : animaux de plus de 2 ans (56%)

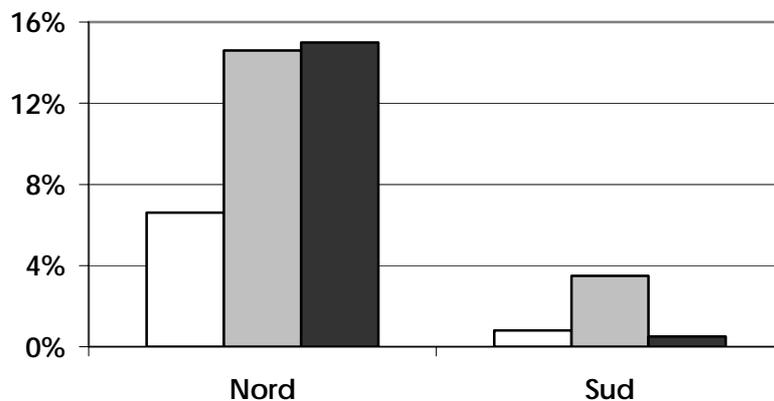


Figure 3 : Développement de la séro-prévalence de brucellose chez les sangliers dans les années 2001–2005. Distribution des résultats positifs au nord et au sud de la Suisse. Blanc : période de chasse 2001/02 ; Gris : 2002/03 ; Noir : 2004/05.

Porcs domestiques :

Sur les 19 exploitations porcines choisies pour l'étude, 15 ont participé. Il s'agissait de 6 exploitations d'élevage, 8 exploitations d'engraissement et d'une exploitation mixte. Au total, 62 animaux ont pu être échantillonnés. Cinquante-huit 58 échantillons se sont avérés sérologiquement négatifs. Dans une exploitation de porcs d'engraissement, 4/10 sérums (6.5%) ont été testés positifs à l'analyse par ELISA indirecte. Les titres obtenus étaient cependant très bas. Les analyses supplémentaires ont révélés 3/4 positifs à la RFC et 1/4 positifs à la SA. Des investigations épidémiologiques et des examens cliniques sur l'exploitation n'ont cependant pas pu démontrer une infection manifeste de brucellose. Les

examens bactériologiques des organes génitaux de cinq animaux provenant de cette exploitation n'ont révélé aucune *Brucella* ni *Yersinia*.

Discussion :

L'ELISA indirect a révélé une séro-prévalence moyenne relativement élevée chez le sanglier (14%). Ce résultat est identique à celui obtenu il y a deux ans (Leuenberger, 2004). Au nord de la Suisse, les chiffres sont comparables à ceux de 2002/03. En revanche, au sud le nombre de cas positifs semble diminuer. Un nouvel échantillonnage chez les sangliers en 2005/06 viendra bientôt compléter ces données. Chez les porcs en pâturage, la séro-prévalence obtenue dans le cadre de cette étude est assurément faible et se situe entre 0% et 6.5%. Les titres des échantillons positifs obtenus avec l'ELISA indirect étaient très bas. De plus, les investigations épidémiologiques supplémentaires concernant aussi bien cette exploitation d'engraissement que les élevages de provenance des porcs n'ont révélé aucune suspicion clinique de brucellose. Enfin, les analyses bactériologiques n'ont pas mis de *Brucella* en évidence. Les réactions croisées n'étant pas rares avec *Yersinia enterocolitica*, fréquemment présente chez les porcs, il est très probable qu'il s'agisse-là de faux positifs.

Les difficultés liées au sérodiagnostic de la brucellose sont bien connues. Si le test ELISA indirect présente une très bonne sensibilité, sa spécificité n'est en revanche pas optimale. Le test de la SA est également source de réaction croisées fréquentes (Kittelberger et al., 1995). Des test utilisés, c'est la RFC qui présente la meilleure spécificité. Cependant, même avec ce dernier test, les faux-positifs ne sont pas exclus. Ce qui est probable pour les porcs, l'est sûrement aussi pour les sangliers : il n'est donc pas impossible que la séro-prévalence chez cette espèce soit surestimée. Il est prévu d'utiliser encore un test ELISA compétitif pour tester tous les sérums de cette étude, dans l'espoir de préciser les résultats obtenus. Il est indéniable que de nouveaux outils de diagnostic tel que le test de Fluorescence Polarisation pour la détection des anticorps ou la méthode du PCR pour détecter les *Brucella* permettraient de faire un grand pas en avant dans le cadre de la recherche sur la brucellose.

Notre échantillon de porcs domestiques comprenait essentiellement des animaux d'engraissement, qui sont abattus à l'âge d'environ 6 mois et représentent donc une population beaucoup moins touchée par la brucellose que les porcs d'élevage. Cependant, ce sont bien ces exploitations d'engraissement qui se trouvent dans la zone à risque et notre échantillon peut être donc considéré comme qualitativement représentatif. En revanche, la taille de cet échantillon était faible. La participation à l'étude n'étant pas obligatoire pour les éleveurs, la minimisation du nombre de prélèvements était une condition pour l'obtention de l'autorisation de les effectuer. Il est clair cependant que la situation sanitaire quant à la brucellose de ces porcs d'engraissements susceptibles d'être entrés en contact avec un sanglier infecté ne peut être clairement évaluée si tous les porcs exposés ne sont pas testés.

Il est intéressant de constater que l'exploitation dont provenaient les porcs positifs est située dans une région où de nombreux sangliers ont été testés positifs. On peut donc se demander si les résultats positifs sont réellement des faux-positifs, ou s'ils sont le résultat d'une interaction avec un sanglier infecté. Les conséquences épidémiologiques d'une telle situation sont toutefois moindres : les porcs d'engraissement ne prenant pas part à la reproduction et étant abattus puis remplacés par d'autres, l'infection éventuelle d'un ou plusieurs de ces animaux reste très probablement sans conséquence pour la population de porcs dans son ensemble.

Le problème de la fiabilité des résultats et le faible échantillon prélevé chez les porcs restent indéniablement des faiblesses de cette étude et les résultats sont à interpréter avec précaution. Les expériences faites à l'étranger sont une mise en garde à ne pas oublier. En attendant la disponibilité de nouveaux instruments de diagnostic, nous recommandons de ne pas négliger le risque sanitaire représenté par d'éventuelles interactions entre sangliers et porcs domestiques et soulignons la nécessité de la mise en place d'un système sentinelle pour les porcs en plein air : ceci permettrait en effet de pouvoir mieux évaluer les risques de transmission. Si l'essor des exploitation en plein air continue, il faut en effet s'attendre à ce que de plus en plus de porcs reproducteurs soient exposés au risque de contagion.

L'Office Vétérinaire Fédéral a déjà été confronté à la problématique de la peste porcine chez les sangliers (Schnyder et al., 2002). Cette étude est un exemple supplémentaire de

l'intégration d'une espèce sauvage dans la surveillance officielle d'une épizootie touchant des espèces sauvages et domestiques en Suisse.

Remerciements :

Nous remercions vivement tous les chasseurs, les surveillants de la faune et les inspecteurs de la chasse ainsi que les éleveurs de porcs qui ont permis la réalisation de cette étude grâce à leur participation. Cette étude a été financée par l' Office vétérinaire fédéral.

Littérature :

- Boudry, O., Neet, C., 2001, Genetic structure of wild boar (*Sus scrofa*) populations from Switzerland and France. The wildlife society, 87-89.
- Cvetnic, Z., Mitak, M., Ocepek, M., Lojkic, M., Terzic, S., Jemersic, L., Humski, A., Habrun, B., Sostaric, B., Brstilo, M., Krt, B., Garin-Bastuji, B., 2003, Wild boars (*Sus scrofa*) as reservoirs of *Brucella suis* biovar 2 in Croatia. Acta Vet. Hung. 51, 465-473.
- Gennero, M., Grattarola, C., Bergagns, S., Zoppi, S., Travaglio, S., Gobetto, M., Dondo, A., 2005, Brucellosis surveillance in wild boars in Piedmont (Italy). Verh. ber. Erkr. Zootiere 42, 223-227.
- Kittelberger, R., Hilbink, F., Hansen, M.F., Ross, G.P., Joyce, M.A., Fenwick, S., Heesemann, J., Wolf-Watz, H., Nielsen, K., 1995, Serological crossreactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* 0:9 II the use of *Yersinia* outer proteins for the specific detection of *Yersinia enterocolitica* infections in ruminants. Vet. Microbiol. 47, 271-280.
- Leuenberger, R., 2004. Surveillance of wild boar in Switzerland: prevalence of infections relevant to domestic pigs. Universität Basel, Basel.
- Schnyder, M., Stark, K.D., Vanzetti, T., Salman, M.D., Thor, B., Schleiss, W., Griot, C., 2002, Epidemiology and control of an outbreak of classical swine fever in wild boar in Switzerland. Vet. Rec. 150, 102-109.