UNIVERSITE DE NGAOUNDERE

**********

ECOLE DES SCIENCES ET DE MEDECINE VETERINAIRE

**********

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET PATHOLOGIES INFECTIEUSES

THE UNIVERSITY OF NGAOUNDERE

**********

SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE AND SCIENCES

**********

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

# PREVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS CERTAINS DEPARTEMENTS DES REGIONS DU NORD ET DE L'ADAMAOUA-CAMEROUN

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

DE DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE

Par : BAYANG HOULI Nicolas

Matricule: 07A008MV

Première promotion

SUPERVISEUR

Pr Julius AWAH NDUKUM

Maître de conférences

ANNEE 2014

UNIVERSITE DE NGAOUNDERE

**********

ECOLE DES SCIENCES ET DE MEDECINE VETERINAIRE

**********

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET PATHOLOGIES INFECTIEUSES

THE UNIVERSITY OF NGAOUNDERE

**********

SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE AND SCIENCES

**********

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

# PREVALENCE ET FACTEURS DE RISQUE DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS CERTAINS DEPARTEMENTS DES REGIONS DU NORD ET DE L'ADAMAOUA-CAMEROUN

Mémoire présenté le 04 Décembre 2014 à l'Ecole des Sciences et de Médecine Vétérinaire

Par : BAYANG HOULI Nicolas

Matricule: 07A008MV

Première promotion

SUPERVISEUR

Pr Julius AWAH NDUKUM

Maître de conférences

ANNEE 2014

# FICHE DE CERTIFICATION D'ORIGINALITE DU TRAVAIL

Je soussigné BAYANG HOULI Nicolas, atteste que le présent mémoire est le fruit de mes propres travaux effectués dans certains départements des régions du Nord et de l'Adamaoua sous la supervision du Pr Julius AWAH NDUKUM.

Ce mémoire est authentique et n'a pas été antérieurement présenté pour l'acquisition de quelque grade universitaire que ce soit.

Nom et signature de l'auteur

BAYANG HOULI Nicolas

Date

19/03/2015

Visa du Chef de Département

Dr. Victor Ngu Ngwa
Médecin Vetérinaire, PhD

Date

19 MARS 2015

Visa du Superviseur

Pr J. Awah Ndukum

Date

19 MARS 2015

# FICHE DE CERTIFICATION DES CORRECTIONS APRES SOUTENANCE

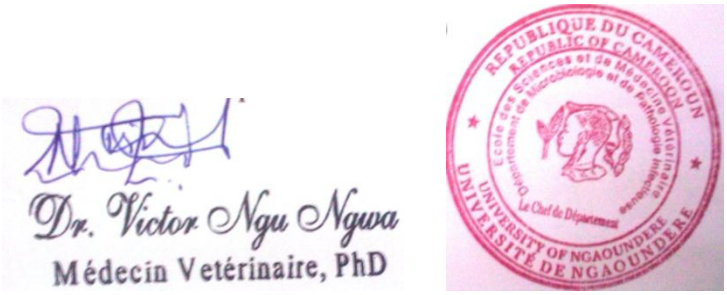
Le présent mémoire a été revu et corrigé conformément aux observations du jury.

Visa du superviseur

Date

19 MARS 2015

Visa du Chef de Département




Date

19 MARS 2015

# DEDICACES

***En signe de reconnaissance et de gratitude, je dédie ce mémoire ;***

A mon père Mr. HOULI Jean Paul et sa famille

# REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers tous ceux qui ont contribué à sa réalisation. Mes remerciements vont particulièrement à :

- Mon Dieu, l'Eternel des Armées qui ne cesse de m'accorder la santé, la sagesse tout en comblant mes besoins spirituels et matériels ;
- Mr le Directeur de l'ESMV le Pr André ZOLI PAGNAH et son personnel qui n'ont cessé de ménager aucun effort pour l'aboutissement de ce long parcours de combattant ;
- Le Corps Enseignant de l'ESMV, pour leur contribution à notre formation ;
- Mon Superviseur le Pr Julius AWAH NDUKUM et mes Encadreurs Dr MOUICHE MOCTAR M. M. et Dr MANCHANG TANYI Kinsley sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour. Je tiens solennellement à les remercier pour leur soutien matériel, moral et leur disponibilité ô combien salutaire et indéfectible ;
- Dr Fon-Tebug Stanly de l'ILRI Africa et ses Collègues de l'Espagne pour leur don en réactif Rose Bengale utilisé lors de cette étude ;
- Le Chef de Centre IRAD-Wakwa et son personnel pour avoir mis à ma disposition un laboratoire pour la réalisation des analyses sérologiques ;
- Dr ASSANA Emmanuel pour sa contribution dans la réalisation de ce mémoire à travers l'analyse des données statistiques collectées ;
- Dr FEUSSOM K. Jean Marc, Vétérinaire Epidémiologiste, Service de l'Epidémio-surveillance au MINEPIA pour sa contribution à la réalisation de ce mémoire ;
- Mr MOHAMMADOU BAMANGA Régisseur/Chef projet PAPA/ADFL et toute son équipe pour l'opportunité qu'ils m'ont accordée tout au long de ce stage de découvrir le monde paysan et au-delà, mon intégration auprès des éleveurs ;
- Mr l'Assistant Technique auprès du PAPA/ADFL le Dr ABOUAME SALE pour ses conseils et sa disponibilité ;
- Mes parents HOULI Jean Paul et MAIDA Jacqueline, mes belles mères KOUSSENDA Pauline et MALE Véronique, mes frères et sœurs pour leur soutien matériel, moral et surtout spirituel ;
- Mon grand frère KAOUNA DJARSOUM et sa famille pour l'encadrement et le soutien ;
- Mes amis BAGNIMBOM J. M., FABANE F., DJONMAILA DJAKDANDI J., NGOUNOU N. Rodrigue pour leur soutien moral renouvelé ;
- Mademoiselle MAIPA Viviane pour son assistance tant matérielle que morale ;
- Mes camarades de la première promotion pour leur esprit de fraternité et d'équipe ;
- Mes amis de proche ou de loin pour leur convivialité.

# TABLE DE MATIERES

FICHE DE CERTIFICATION D'ORIGINALITE DU TRAVAIL ..... ii

FICHE DE CERTIFICATION DES CORRECTIONS APRES SOUTENANCE ..... iii

DEDICACES ..... iv

REMERCIEMENTS ..... v

TABLE DE MATIERES ..... vi

LISTE DES ABREVIATIONS ..... viii

LISTE DES TABLEAUX ..... ix

LISTE DES FIGURES ..... x

LISTE DES PHOTOS ..... xi

RESUME ..... xii

ABSTRACT ..... xiii

INTRODUCTION ..... 1

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ..... 3

I.1 EPIDEMIOLOGIE DE LA BRUCELLOSE ANIMALE ..... 3

I.1.1 Historique de la brucellose dans le monde, en Afrique et au Cameroun ..... 3

I.1.2 Brucellose animale ..... 4

I.1.3 Épidémiologie de la brucellose ..... 10

I.1.4 Brucellose zoonose ..... 13

I.2 TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC ET METHODES DE DETERMINATION DE LA PREVALENCE DE LA BRUCELLOSE ..... 14

I.2.1 Techniques de diagnostic ..... 14

I.2.2 Méthodes de détermination de la prévalence : intérêts et limites ..... 21

I.2.3 Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique subsaharienne ..... 23

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES ..... 30

II.1 ZONE D'ETUDE ..... 30

II.1.1 Zone soudano sahélienne ..... 30

II.1.2 Zone des hautes savanes guinéennes ..... 31
II.2 ELEVAGE DANS LES REGIONS DE L'ADAMAOUA ET DU NORD ..... 32
II.3 ECHANTILLONNAGE ..... 34
II.4 EVALUATION DU NIVEAU DE CONNAISSANCE DES ELEVEURS PAR RAPPORT A LA BRUCELLOSE BOVINE ..... 35
II.5 PRELEVEMENTS ..... 35
II.6 COLLECTE, TRAITEMENT ET CONSERVATION DES DONNEES BIOLOGIQUES ..... 36
II.7 EXAMENS SEROLOGIQUES ..... 36
II.7.1 L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) ou Rose Bengale ..... 36
II.7.2 L'ELISA indirect ..... 37
II.8 ANALYSE DES DONNEES ..... 40
II.8.1 Calculs des prévalences ..... 40
II.8.2 Facteurs de risque ..... 41
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION ..... 42
III.1 RESULTATS ..... 42
III.1.1 Niveau de connaissance des certains acteurs de la filière bovine sur la brucellose bovine ..... 42
III.1.2 Prévalence ..... 44
III.1.3 Facteurs de risque de la brucellose bovine ..... 47
III.2 DISCUSSION ..... 52
III.2.1 Épidémiologie descriptive ..... 52
III.2.2 Facteurs de risques ..... 54
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS ..... 56
REFERENCES ..... 58
ANNEXES ..... 63

# LISTE DES ABREVIATIONS

**FCFA** : Franc des Communautés Financières d'Afrique

**MINEPIA** : Ministère de l'Elevage, des Pêches et des Industries Animales

**IVS** : Institut de Veille Sanitaire

**OIE** : Organisation Mondiale de la Santé Animale

**FAO** : Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**pH** : potentiel d'hydrogène

**°C** : degré Celsius

**ASS** : Afrique Subsaharienne

**NS** : Non signalé

**PIB** : Produit Intérieur Brut

**hab./km$^2$** : nombre d'habitants par kilomètre carré

**PAPA/ADFL** : Programme d'Amélioration de la Productivité Agricole /Appui au Développement de la Filière Laitière

**EAT** : Epreuve à l'antigène tamponné

**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**PACE**: Programme Panafricain de Contrôle des Epizooties

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique Sub-saharienne (Afrique de l'Ouest) .....25
Tableau II : Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique Sub-saharienne (Afrique de l'Est, Centrale et Australe) .....26
Tableau III: Caractéristiques de l'élevage dans les régions du Nord et de 'Adamaoua .....33
Tableau IV : Prévalences apparente et réelle (%) de la brucellose bovine à l'échelle individuelle et du troupeau en fonction de la région et du test .....44
Tableau V : Résultats combinés des différents tests sérologiques .....46
Tableau VI : Prévalences apparentes aux différents tests et l'opinion de l'expert par rapport à ces tests (sensibilité et spécificité) .....47
Tableau VII : Prévalence réelle estimée après avoir combiné des résultats des tests sérologiques à l'opinion de l'expert sur un modèle Bayésien à l'aide du logiciel WinBUGS à 30000 itérations (voir annexe 7 pour le modèle).....47
Tableau VIII : Influence des facteurs extrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés à l'environnement, à la gestion et au mode d'élevage).....49
Tableau IX : Influence des facteurs extrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés au niveau de connaissance de l'éleveur sur la brucellose bovine) .....50
Tableau X : Influence des facteurs intrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés à l'animal).....51

# LISTE DES FIGURES

Figure 1: Carte de la zone d'étude (régions du Nord et de l'Adamaoua).....30
Figure 2 : Principe de l'Elisa indirect .....38
Figure 3 : Répartition de la prévalence apparente individuelle au niveau des sites de prélèvements en utilisant l'Epreuve à l'antigène tamponné (EAT).....45
Figure 4 : Répartition de la prévalence apparente individuelle au niveau des sites de prélèvements en utilisant l'Elisa indirect.....45

# LISTE DES PHOTOS

Photo 1: Séroagglutination dans le puits n°1 après 4 minutes d'agitation .....37
Photo 2 : Kit ELISA indirect.....37
Photo 3 : Distribution des contrôles positif et négatif dans les cupules A1, B1, C1 et D1 .....38
Photo 4 : Identification de quelques cas positifs (couleur jaune) après addition de la solution d'arrêt dans les différentes cupules .....39

# RESUME

L'objectif de cette étude a été de préciser la prévalence et les facteurs de risque de la brucellose bovine dans certains départements des régions du Nord et de l'Adamaoua-Cameroun. La population étudiée est constituée de 1031 animaux repartis dans 82 élevages. Ces animaux étant âgés de trois ans et plus. L'échantillon a été sélectionné à l'aide d'un sondage de type stratifié à trois niveaux (région, département puis troupeau). Le diagnostic a été réalisé par une analyse sérologique à l'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) ou Rose Bengale, puis à l'ELISA indirect. En plus, un questionnaire a été administré à 52 éleveurs afin d'évaluer leur niveau de connaissances sur la brucellose bovine. Ces analyses sérologiques ont donné une prévalence à l'échelle individuelle de 10,5% (Intervalle de Confiance (IC) à 95% [8,6 ; 12,3]) au Rose Bengale et de 8,8% (IC à 95% [7,1 ; 10,5]) à l'Elisa indirect. La prévalence à l'échelle du troupeau est de 46,3% (IC à 95% [35,5 ; 57,1]) et à 26,8% (IC à 95% [17,2 ; 36,4]) respectivement à l'EAT et à l'ELISA indirect. La prévalence réelle par approche bayésienne est de 5,4% (IC à 95% [0,4 ; 10,5]). Les principaux facteurs de risques identifiés par rapport à la brucellose sont la région, la taille du troupeau, le département, l'âge, le sexe et la connaissance de la brucellose par l'éleveur. L'importance de cette pathologie est médicale, même si elle est méconnue. Pour moderniser l'élevage traditionnel et accroitre la productivité, il est important que l'on mette en place des mesures de lutte contre la brucellose bovine dans nos élevages. Afin de prévenir les cas de contamination humaine, la sensibilisation accrue des populations sur le risque sanitaire lié à la consommation de lait et de produits laitiers crus doit être renforcé. Pour le contrôle effectif de cette pathologie au Cameroun, une approche intégrée devrait être mise en place en prenant en compte les relations et les interactions qui existent entre l'homme, les animaux et l'environnement. Pour la gestion de la santé publique humaine et vétérinaire, un cadre multisectoriel faisant intervenir les médecins, les vétérinaires, les éleveurs et la communauté affectée est un outil important surtout dans le contrôle de la brucellose tant chez l'animal que chez l'homme au Cameroun.

**Mots clés :** Brucellose bovine, prévalence, facteurs de risque, approche bayésienne, région, département, Nord et Adamaoua-Cameroun.

# ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence and risk factors of bovine brucellosis in some Divisions of North and Adamawa Regions of Cameroun. The studied population consisted of animals of at least three years old of age. The samples were selected using a survey on three levels (Region, Division, Livestock farmers or herds). The diagnosis was carried out by serologic analysis using the Serum Agglutination Test (SAT) or Rose Bengal (RB) and the indirect ELISA. Furthermore, questionnaires were issued to livestock breeders to evaluate their level of knowledge on bovine brucellosis. The questionnaire responses and serologic test outcomes were used to determine risk factors of animals to bovine brucellosis. A total of 1031 cattle distributed in 82 herds were tested using SAT and indirect ELISA. These serological tests gave individual prevalence rates of 10.5% (95% Credibility Interval (CI) [8.6; 12.3]) for SAT and 8.8 % (95% CI [7.1; 10.5]) for indirect ELISA. Herd prevalence was 46.3% (95% CI [35.5; 57.1] and 26.8% (95% CI [17.2; 36.4]) with SAT and indirect ELISA, respectively. However, Bayesian analysis of these serologic results revealed an overall individual real prevalence for bovine brucellosis of 5.4% (95% CI [0.4; 10.5]) in the study areas. The principal risk factors recorded for bovine brucellosis in this study were Region, Division, herd size, age, sex and level of knowledge of brucellosis by the stockbreeders. The importance of bovine brucellosis is always economic and medical, even if it is not known indicating that the importance of control measures against the disease cannot be overemphasized, irrespective of the system of management. Health education of the animal professionals and the general public on risk factors such as the existence of the bovine brucellosis, consumption of raw milk and dairy products, should be intensified. A multi-sectorial collaboration of all actors in public health involving Medical personnel, Veterinarians, related stakeholders and affected communities is vital to effectively control brucellosis in animals and humans in Cameroon.

**Key words:** Bovine brucellosis, prevalence, risk factors, Bayesian analysis, division, region, North and Adamawa-Cameroun

# INTRODUCTION

L'Afrique Sub-saharienne (ASS) est la partie du continent africain qui enregistre le taux de croissance démographique le plus élevé de la planète (2,18% contre 1,05% dans le reste du monde) impliquant une hausse de la demande en protéines d'origine animale (Mangen *et al.*, 2002). Afin de répondre à cette demande, les productions animales ont un grand rôle à jouer. L'élevage du bétail, surtout des bovins et des petits ruminants en Afrique connait trois contraintes qui sont d'ordre génétique, sanitaire et nutritionnel (Akakpo et Ndour, 2013). Parmi les contraintes citées précédemment, les contraintes sanitaires sont les plus importantes au rang desquelles les maladies animales (infectieuses, parasitaires, etc.) qui sont à l'origine de la baisse des performances de ces animaux et par conséquent, de la faible productivité (Mangen *et al.*, 2002; Akakpo et Ndour, 2013). Ainsi, ces maladies se présentent comme un frein pour le développement de l'élevage avec en ligne de mire les maladies infectieuses telles que la brucellose, qui depuis des décennies est devenue endémique (Akakpo et Ndour, 2013). Classée dans la liste des zoonoses majeures, la brucellose est considérée par l'OIE et la FAO comme étant un frein pour l'accroissement la production animale avec des pertes économiques importantes (Mangen *et al.*, 2002).

La brucellose est une maladie infectieuse contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'Homme, due à des bactéries Gram négatif du genre Brucella. *Brucella sp* sont des bactéries intracellulaires facultatives, coccobacilles, non sporulées et non capsulées. Dix espèces de Brucella sont actuellement connues dont huit affectent les mammifères terrestres (*Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella ovis, Brucella neotomae, Brucella canis, Brucella microti et Brucella inopinata*, les trois premières étant subdivisées en biotypes) et les deux autres identifiées chez les mammifères marins (*Brucella ceti* et *Brucella pinnipediae*) (Anonyme, 2004). C'est une pathologie de la reproduction caractérisée par la stérilité et se manifestant chez la femelle par l'avortement, les métrites, les endométrites, la rétention placentaire et chez le mâle par des orchites, des épididymites, des orchi-épididymites (Sikder *et al.*, 2012). Sa répartition géographique est mondiale (Seleem *et al.*, 2010).

C'est une affection qui a une double importance, liée d'une part à la fréquence et la gravité des cas humains car c'est une zoonose majeure et d'autre part à ses conséquences socio-économiques en élevage à savoir, les pertes de production et les entraves aux échanges commerciaux d'animaux et produits dérivés (Anonyme, 2004). Cette affection du fait de son double intérêt pour le cheptel bovin et pour l'homme, mérite qu'il lui soit porté une attention particulière et considérable, vu sa contagiosité et son caractère zoonotique. Ce fléau constitue une menace sérieuse

et permanente pour la santé publique (Akakpo et Ndour, 2013; Benkirane, 2001; Chakroun et Bouzouaia, 2007; Kouamo *et al.*, 2010).

C'est pour cette raison que certains gouvernements et organismes internationaux tels l'OIE, la FAO et l'OMS ont fait de ce vice leur cheval de bataille avec l'avènement du concept «One Health » comme stratégie de gestion du risque de santé humaine et animale (Akakpo et Ndour, 2013). Omniprésente sur tous les continents, cette maladie constitue un handicap sérieux pour les échanges commerciaux des animaux et des produits d'origine animale. Des travaux autour cette affection ont été menés en Afrique subsaharienne afin de recueillir des données épidémio-cliniques et étiologiques, avec la mise en exergue de son impact sur le revenu des acteurs du secteur pastoral (embouche et production laitière) et de son importance hygiénique (zoonose) (Seleem *et al.*, 2010).

Afin d'améliorer le revenu de ces acteurs, le gouvernement Camerounais a initié plusieurs projets et programmes dont les objectifs sont entre autres, la relance de certaines filières (filière embouche, filière laitière), l'augmentation de la productivité et l'autosuffisance en matière de protéines d'origine animale à l'instar du lait. C'est pour cette raison que le gouvernement dans l'optique de répondre aux demandes croissantes en produits laitiers au niveau local souvent comblées par des flux d'importations exorbitants du lait en poudre, a lancé officiellement au courant de l'année 2012, le Programme d'Amélioration de la Productivité Agricole dans sa composante Appui au Développement de la Filière Laitière (PAPA/ADFL) en direction des régions à potentiel laitier important (Anonyme, 2009). Pour s'assurer de la qualité sanitaire et hygiénique du lait ainsi produit, une connaissance du statut sérologique du cheptel laitier par rapport aux zoonoses comme la brucellose bovine s'avère nécessaire.

En prenant en compte ce qui précède et sur une hypothèse que la brucellose continue à se propager sur le terrain, ne serait-il pas judicieux de réévaluer la prévalence de cette affection tout en déterminant les facteurs de risque qui conditionnent sa répartition ou sa distribution ?

L'objectif général de notre étude est celui de contribuer à la lutte contre la brucellose bovine dans certains départements des régions de l'Adamaoua et du Nord-Cameroun. De façon spécifique, il s'agit de :

- Evaluer le niveau de connaissances de certains acteurs de la filière bovine sur la brucellose bovine ;
- Déterminer la prévalence de la brucellose bovine dans la zone d'étude ;
- Identifier les facteurs de risque de la brucellose bovine dans cette zone.

# Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1 EPIDEMIOLOGIE DE LA BRUCELLOSE ANIMALE

La brucellose est une maladie infectieuse contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'Homme, due à des bactéries Gram négatif du genre Brucella. *Brucella sp* sont des bactéries intracellulaires facultatives, coccobacilles, non sporulées et non capsulées. Elles appartiennent à la subdivision Alpha-2 des Protéobactériales au même titre qu'Orchrobactrum, Rhizobium, Rhodobacter, Agrobacterium, Bartonella et Rickettsia (Seleem *et al.*, 2010). Dix espèces de Brucella sont actuellement connues dont huit affectent les mammifères terrestres (*Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella ovis, Brucella neotomae, Brucella canis, Brucella microti et Brucella inopinata*, les trois premières étant subdivisées en biotypes) et les deux autres identifiées chez les mammifères marins (*Brucella ceti* et *Brucella pinnipediae*) (Sanogo *et al.*, 2013). Ces bactéries présentent un tropisme pour l'appareil génital conduisant à des avortements. Des cas de brucellose humaine ont été attribués à 4 des 8 espèces de *Brucella* rencontrées chez les mammifères terrestres à savoir *B. melitensis et B. suis* qui sont les espèces les plus virulentes suivies de *B. abortus* et *B. canis* (Boukary, 2013).

### I.1.1 Historique de la brucellose dans le monde, en Afrique et au Cameroun

La brucellose est une anthropozoonose cosmopolite dont la plus ancienne description chez l'homme remonterait à Hippocrate (460 –377 avant notre ère) (Boukary, 2013). La maladie a été identifiée pour la première fois pendant la guerre de Crimée et, en 1887, le Docteur David Bruce en a isolé la bactérie. Le Docteur Bernhard Bang (1897) a isolé *Brucella abortus* donnant ainsi à la maladie le nom de maladie de Bang ainsi que celui de brucellose (Seleem *et al.*, 2010). Depuis sa découverte, la brucellose s'est très vite répandue sur tous les continents. Longtemps méconnue en Afrique au Sud du Sahara, la première observation chez l'homme a été faite par Bourret en 1910, à Saint Louis, au Sénégal et par la suite la maladie humaine a été identifiée un peu partout sur le continent africain (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013).

La maladie a été mise en évidence chez des bovins au Tchad par Sacquet en 1955. Depuis, la maladie a été trouvée avec une incidence variable, tant chez l'homme que chez les animaux, dans toutes les parties du sous-continent où elle a été diagnostiquée (Boukary, 2013). Cependant, la prévalence réelle de la maladie est peu connue en Afrique Sub-Saharienne (ASS). L'analyse des articles consacrés à la brucellose prouvent que la plupart des travaux effectués jusqu'à ce jour dans cette partie de l'Afrique, avaient pour but de chercher ou de confirmer l'existence de la maladie

dans les territoires nationaux et/ou d'identifier l'agent infectieux en cause (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013)

La brucellose une anthropozoonose à répartition mondiale mais dont certains pays de l'Europe centrale et du nord, ainsi que le Canada, le Japon, l'Australie et la Nouvelle Zélande sont considérés comme indemnes (OIE, 2009). C'est une maladie importante en raison de son aspect zoonotique et des conséquences économiques qu'elle engendre (pertes de production, entraves aux échanges commerciaux). Affectant aussi bien les humains que de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages, elle est considérée comme l'une des zoonoses les plus répandues dans le monde (Akakpo et Ndour, 2013). Elle appartient pour cela à la liste des maladies prioritaires de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE, 2009).

### I.1.2 Brucellose animale

#### I.1.2.1 La brucellose bovine

Causée le plus souvent par *Brucella abortus*, elle touche les bovins ainsi que des ruminants domestiques ou sauvages et son tableau clinique est caractérisé par des troubles de la reproduction. Répandue à l'échelle mondiale, certains pays en sont toujours indemnes en Europe grâce à une mesure prophylactique efficace (Sibille, 2006).

##### I.1.2.1.1 Importance

L'importance économique de la brucellose est mal perçue en Afrique Subsaharienne. Parmi les facteurs de pertes de production, l'avortement semble occuper la première place des effets négatifs de la maladie sur le cheptel, suivie de la mortinatalité, de l'infertilité, de la baisse de la production laitière puis de l'allongement de l'intervalle entre les vêlages (Akakpo *et al.*, 2009). Son importance hygiénique repose sur son aspect zoonotique avec deux populations à haut risque (bergers et leurs familles d'une part et ouvriers des abattoirs d'autre part). Les deux catégories ont en commun la possibilité d'un contact étroit avec les animaux infectés, source de la contagion, soit par contact direct, soit par ingestion de laitage (lait cru, beurre) provenant de ces animaux. La brucellose bovine serait donc une maladie professionnelle et une zoonose accidentelle (Boukary, 2013).

Ainsi, elle est inscrite au Cameroun sur la liste des maladies réputées contagieuses à déclaration obligatoire (Anonyme, 2012b).

##### I.1.2.1.2 Etiologie

La bactérie responsable de la maladie est généralement *Brucella abortus*, qui possède neuf sérovars différents. Lorsque le bovin est gardé en étroite association avec les petits ruminants, des

cas de brucellose bovine à *Brucella melitensis* peuvent apparaître. Enfin, de très rares cas impliquent *Brucella suis*, qui peuvent entraîner une infection des glandes mammaires mais ne semblent pas être responsables d'avortement (Sibille, 2006).

*Brucella* est un coccobacille à Gram négatif, aérobie, à tropisme intracellulaire et non sporulé. La bactérie peut survivre jusqu'à deux ans dans le milieu extérieur si les conditions de l'environnement sont favorables (température basse, à l'abri de la lumière). Trois espèces prédominent : *Brucella melitensis*, espèce la plus pathogène, la plus invasive et la plus répandue dans le monde, *Brucella abortus* et *Brucella suis* (IVS, 2001).

*Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *Brucella suis* ont des caractéristiques antigéniques communes, présentant toutes trois des colonies de type « smooth » grâce au lipopolysaccharide (LPS) de leur paroi, également responsable du développement des anticorps détectés chez l'hôte. Les colonies sont donc rondes, translucides, lisses, convexes, et à contours nets. La morphologie des *Brucella* est assez constante, exceptée dans les vieilles cultures où des formes pléomorphiques peuvent apparaître. Parfois, des colonies « rough » (rugueuses et opaques) se développent, suite à une mutation spontanée provoquant une absence de LPS (Sibille, 2006).

#### I.1.2.1.3 Pathogénie

La pénétration de la bactérie se fait généralement via la muqueuse orale, du nasopharynx, des conjonctives, par voie génitale, et parfois par des lésions cutanées. Il se produit alors une réaction inflammatoire aiguë de la sous muqueuse avec infiltration de leucocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes). Ensuite, la réaction s'étend aux nœuds lymphatiques locaux via la voie lymphatique (Sibille, 2006). L'infection brucellique est une infection chronique qui évolue en deux périodes (Anonyme, 2004) :

- La période primaire suit la contamination

Elle évolue en 3 étapes :

- La première étape correspond à la multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques du lieu de contamination ;
- La deuxième étape est marquée, au bout de quelques jours à plusieurs semaines, par la dissémination lymphatique (prépondérante chez les bovins) et sanguine (bactériémie discrète et fugace dans l'espèce bovine où il est très difficile d'obtenir une hémoculture positive) de la bactérie. Cette phase est asymptomatique chez les bovins ;
- La troisième étape se traduit par la localisation et la multiplication des *Brucella* en certains sites électifs : les tissus lymphoïdes (notamment les nœuds lymphatiques de la sphère génitale et mammaire), le placenta chez les femelles gravides, les testicules et ses annexes (épididyme) chez le mâle, la glande mammaire, les bourses séreuses et synoviales (bourses

carpiennes) ainsi certaines articulations. Ces localisations peuvent s'accompagner de manifestations cliniques caractérisant la brucellose aiguë : avortement, orchite ou épididymite. Elles permettent aussi pour certains (utérus gravide, appareil génital mâle, mamelle), l'excrétion des *Brucella* et leur dissémination.

- La période secondaire est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement d'une immunité (de type cellulaire). Toutefois, la guérison (élimination des *Brucella*) est rare. Les *Brucella* ont la capacité de résister à l'action des mécanismes immunitaires et se maintiennent plusieurs années dans certains sites privilégiés, notamment les nœuds lymphatiques. Une réactivation peut être induite à chaque gestation et l'infection placentaire peut alors provoquer un avortement et/ou induire une excrétion bacillaire à l'occasion des mises-bas. Leur persistance dans les bourses séreuses et articulations peut aussi générer un hygroma ou une arthrite chronique.

***Mécanismes de l'avortement***

Les *Brucella* se multiplient dans l'espace utéro-chorial, entraînant une placentite exsudative et nécrotique. Ces lésions provoquent un décollement utéro-chorial et des adhérences fibreuses entre placenta et utérus. Si ces lésions sont étendues, elles sont responsables d'une interruption des échanges nutritifs entre la mère et son fœtus ; le fœtus meurt d'anoxie et il y a avortement (Anonyme, 2004). Des brèches peuvent également permettre le passage de *Brucella* dans la cavité amniotique; les bactéries sont alors ingérées par le fœtus et provoquent une septicémie mortelle, conséquence avortement (Sibille, 2006). Si les lésions sont limitées, l'infection placentaire est compatible avec la survie du fœtus. On peut alors observer la naissance à terme ou prématurée du produit. Mais, parfois, le nouveau-né souffre de lésions cérébrales d'origine hypoxique entraînant sa mort dans les 48 heures suivant la naissance (Anonyme, 2004).

Par ailleurs, les adhérences entre chorion et utérus provoquent des rétentions placentaires chez les femelles infectées (Anonyme, 2004). Une femelle infectée n'avorte en général qu'une fois (dans 80% des cas), mais elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions génitales au cours des vêlages suivants (Sibille, 2006).

#### I.1.2.1.4 Clinique

L'incubation est très variable : l'avortement peut avoir lieu quelques semaines à plusieurs mois après l'infection. Les symptômes sont inconstants (Sibille, 2006).

- **Symptômes génitaux**

La brucellose bovine est caractérisée par des avortements, des localisations articulaires et synoviales (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

La maladie est généralement asymptomatique chez les femelles non gravides, les symptômes les plus courants concernant l'appareil génital. En effet, le premier signe chez la femelle est l'avortement, sans dystocie, possible à n'importe quel stade de la gestation, mais le plus souvent vers 6-7 mois quand la génisse a été infectée à la saillie ou au tout début de la gestation (Anonyme, 2004). L'avorton est toujours mort quant il a moins de six mois, parfois vivant quand il est plus âgé, mais il meurt généralement peu de temps après (Sibille, 2006). Parfois, si la génisse a été infectée pendant la deuxième moitié de la gestation, la mise bas n'est prématurée que de quelques jours, mais les lésions d'hypoxie sont souvent trop graves pour permettre la survie du jeune. La rétention placentaire est fréquente après l'avortement (Anonyme, 2004). Des lésions d'endométrite peuvent ensuite être responsables d'infécondité temporaire. Le pourcentage d'avortement dans un troupeau n'ayant jamais été au contact de la bactérie est de 50 à 70% (Sibille, 2006).

Chez le mâle, des orchites ou orchi-épididymites (uni- ou bilatérales) sont observées, entraînant une stérilité fréquente (Sibille, 2006).

- **Symptômes extra-génitaux**

Ils sont rares chez les bovins, associés à une évolution chronique. Ce sont alors des hygromas, uni- ou bilatéraux et généralement localisés au carpe ou des arthrites. Ces symptômes sont plus fréquents en régions tropicales (Sibille, 2006).

#### II.1.2.1.5 Lésions

Seules les altérations histopathologiques sont assez spécifiques, mais elles sont variables et inconstantes dans les organes (Sibille, 2006). Une lymphadénite locale est systématique, avec hyperplasie lymphoïde, accompagnée d'une infiltration importante de cellules mononuclées et de quelques granulocytes neutrophiles et éosinophiles (Anonyme, 2004).

Sur l'utérus, on peut observer une endométrite, évoluant de la forme aiguë vers la forme chronique. Un exsudat gris sale, consistant ou visqueux, y est en quantité variable, chargé de flocons purulents plus ou moins gros. Les cotylédons de la matrice sont nécrotiques, gris jaunâtres, et recouverts d'un exsudat collant, sans odeur et brunâtre (Sibille, 2006). Quant au placenta inter cotylédonaire, il est peu altéré : épaissi par endroits, il peut être œdémateux, et recouvert d'exsudat. Chez l'avorton, un œdème sous cutané important se développe, les cavités splanchniques sont remplies d'un exsudat séro-sanguinolent, et on observe parfois des lésions de pleuropneumonie (Sibille, 2006). Au niveau du pis, il n'y a pas de lésions macroscopiques, mais les nœuds lymphatiques supra mammaires sont hypertrophiés (Anonyme, 2004).

Les testicules d'un mâle infecté présentent des lésions de nécrose multifocales ou diffuses dans le parenchyme testiculaire et l'épididyme. Dans les cas chroniques, ces lésions sont granulomateuses (Anonyme, 2004).

Enfin, les cas d'hygromas s'observent généralement au carpe, et ils contiennent une grande quantité de germes (Sibille, 2006).

### I.1.2.2 La brucellose chez les autres espèces

#### I.1.2.2.1 Chez les petits ruminants

Due le plus souvent à *Brucella melitensis*, elle affecte les organes de la reproduction. Il faut bien distinguer la brucellose ovine due à *Brucella melitensis* de l'« épididymite contagieuse du bélier », qui est causée par *Brucella ovis*. Elle est moins répandue dans le monde que l'infection à *Brucella abortus* (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Son importance est d'abord hygiénique, en raison du fort pouvoir pathogène de la bactérie pour l'homme, qui peut se contaminer par contact direct avec les animaux infectés ou par la consommation de lait et de fromages frais. Quant à son importance économique, elle tient aux pertes engendrées par les avortements, les cas de stérilité, ainsi qu'aux conséquences sur la commercialisation des produits (Anonyme, 2004). Elle provoque également une hausse du taux de mortalité périnatale, des morts chez les femelles, et une baisse des productions (Sibille, 2006). L'incubation dure 14 à 180 jours chez les petits ruminants, au cours desquels se produit la colonisation locale et régionale par les bactéries. Les étapes de l'infection sont identiques à celles de la brucellose bovine. Cependant, les ovins se débarrassent plus facilement et souvent des *Brucella* que les bovins : il se produit souvent une auto stérilisation des brebis en repos sexuel, de six mois à un an. Les lésions les plus courantes sont des rétentions placentaires et des endométrites, plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins (Anonyme, 2004). Cependant, il convient de noter l'épididymite contagieuse du bélier qui est due à *Brucella ovis*, touchant exclusivement les ovins et qui se caractérise par l'évolution chez le bélier d'une inflammation chronique de l'épididyme aboutissant à une baisse importante de fertilité.

#### I.1.2.2.2 Chez l'espèce canine

La brucellose canine peut être provoquée par *Brucella abortus, melitensis* ou *suis*, et résulte alors de la contamination des chiens auprès de bovins, petits ruminants ou suidés infectés par ces bactéries (Anonyme, 2004). C'est le plus souvent une infection inapparente, mais elle s'exprime parfois par des avortements, orchites ou épididymites. Elle reste habituellement sporadique. Elle est diagnostiquée par les méthodes sérologiques habituelles (Anonyme, 2004). Elle peut se transmettre à l'Homme, mais joue surtout un rôle important dans la contamination des cheptels, soit comme vecteurs mécaniques (transport de placenta ou avortons par les chiens) ou soit comme vecteurs biologiques (excrétion de germes dans les urines et fèces, ou les écoulements vaginaux) bien que cela reste rare (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). L'infection par *Brucella canis* entraîne une maladie

infectieuse et contagieuse du chien, transmissible à l'Homme. Elle est responsable d'avortements contagieux et de stérilité chez les femelles, et d'orchite ou d'épididymite chez les mâles. Elle affecte uniquement le chien, ou parfois l'Homme et est présente dans de nombreux pays (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

#### I.1.2.2.3 Chez l'espèce équine

La brucellose équine est une maladie infectieuse et contagieuse, due à des bactéries du genre *Brucella*, transmissible à l'Homme et à de nombreuses espèces animales, caractérisée essentiellement sur le plan clinique par la présence de lésions suppuratives d'évolution chronique (Anonyme, 2004). Elle est non spécifique des équidés mais est transmise à partir d'autres espèces infectées (Anonyme, 2004). Elle concerne donc les chevaux entretenus à proximité d'un foyer de brucellose (bovins, petits ruminants). L'infection est souvent inapparente, mais quand la maladie atteint certaines localisations (mal du garrot), elle peut compromettre l'avenir du sujet. Il y a de plus un risque de contamination humaine (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Les chevaux sont peu sensibles à l'infection, ils développent une réponse sérologique faible et les anticorps disparaissent rapidement (Anonyme, 2004). La localisation génitale est exceptionnelle et les avortements sont donc très rares. L'infection est suivie d'une bactériémie qui peut provoquer une réaction fébrile (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Ensuite, il peut persister des foyers bactériens localisés tout particulièrement à certaines bourses séreuses, gaines tendineuses ou articulations, et responsables alors d'une brucellose subaiguë localisée (bursite, synovite, arthrite) (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). La transmission d'équidé à équidé est exceptionnelle mais reste possible. Certaines causes prédisposent à l'infection, comme un travail intense, ou des traumatismes lésant les bourses séreuses ou les synoviales et favorisant la localisation des *Brucella* (Sibille, 2006). Cela reste une maladie sporadique, affectant surtout les chevaux de ferme (Sibille, 2006).

#### I.1.2.2.4 Chez les animaux de la faune sauvage

La brucellose peut aussi toucher les animaux sauvages, comme des ruminants, équidés, rongeurs et lagomorphes, carnivores, suidés, etc. Chez ces espèces, l'infection demeure en général inapparente, mais lorsque la maladie apparaît elle s'apparente à celle décrite chez les animaux domestiques (avortements, orchites, arthrites et hygromas) (Anonyme, 2004).

### I.1.3 Épidémiologie de la brucellose

#### I.1.3.1 La brucellose bovine

##### I.1.3.1.1 Epidémiologie analytique

Les espèces animales affectées par *Brucella abortus* sont surtout les bovins, mais aussi d'autres ruminants domestiques (buffles d'Asie, yaks, dromadaires, zébus, moutons et chèvres) et sauvages (buffles d'Afrique, gnous, bison d'Amérique…), et plus rarement les suidés, équidés, carnivores, et rongeurs. Un cheval infecté par *Brucella abortus* présente une infection chronique des bourses séreuses du cou et du garrot. Les ovins, caprins et porcins sont peu sensibles à *Brucella abortus* (Sibille, 2006). L'infection des bovins par *Brucella melitensis* provoque une maladie identique.

Les sources de contagion sont tous les bovins infectés, malades ou apparemment sains (puisqu'ils peuvent rester porteurs à vie). Mais la contagiosité est variable et souvent intermittente : elle est maximale durant la période de reproduction, la phase la plus dangereuse étant la vidange de l'utérus gravide. Tout animal sensible infecté peut aussi être source de contamination (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

Les matières virulentes les plus importantes sont le contenu de l'utérus gravide, expulsé pendant l'avortement ou la mise bas, avec une excrétion qui débute dès la liquéfaction du bouchon muqueux obturant le col et qui disparaît généralement deux ou trois semaines après l'expulsion du fœtus. Les sécrétions vaginales et l'urine peuvent également être virulentes. Et enfin, il existe une excrétion transitoire (quelques jours après la mise bas) et discrète de bactéries dans le lait et le colostrum (surtout importante après un avortement). Chez le mâle, il peut y avoir une excrétion de *Brucella* dans le sperme (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Des bactéries sont parfois présentes dans les produits de suppuration (hygromas), dans les fèces (jeunes nourris avec du lait infecté), et dans les viscères infectés (contamination humaine).

Les *Brucella* sont sensibles à la pasteurisation, mais elles peuvent résister plusieurs semaines à plusieurs mois dans les matières virulentes et le milieu extérieur (pâturages, points d'eau, lisier):

- Plus de huit mois dans un avorton à l'ombre ou dans des fosses à purin
- Deux ou trois mois dans un sol humide
- Trois ou quatre mois dans les fèces

Il existe de nombreux modes de transmission de la maladie entre animaux. La transmission verticale a lieu in utero ou lors du passage dans la filière pelvienne. Les jeunes se débarrassent généralement de l'infection, sauf dans 5-10 % des cas (infection persistante sans réaction sérologique décelable). Les signes cliniques n'apparaîtront que chez les jeunes femelles infectées,

lors de leur première gestation ou plus tard (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Quant à la transmission horizontale, elle peut être directe par contacts lors de cohabitation, ou par ingestion (d'eau, de nourriture, de colostrum ou de lait contaminés) ou encore par voie vénérienne, lorsque les taureaux excrètent des bactéries dans leur sperme. Elle peut également avoir lieu de manière indirecte par l'intermédiaire de locaux, pâturages, aliments, eaux et matériels, ou par léchage de placentas, avortons ou appareils génitaux. La pénétration de la bactérie se fait donc par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive ou vénérienne (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

Divers facteurs de sensibilité et réceptivité ont été identifiés. En effet, la gestation est un important facteur de sensibilité, et lors de contamination hors gestation, on observe une infection transitoire et guérissant spontanément dans plus de 50 % des cas. De plus, il semble que l'âge le plus sensible soit après le développement complet des organes génitaux : les bovins pubères restent généralement infectés toute leur vie, tandis que les jeunes guérissent souvent de leur infection (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

#### I.1.3.1.2 Epidémiologie synthétique

Les causes les plus fréquentes de contamination d'un cheptel sont l'introduction d'un bovin infecté inapparent et la « contaminations de voisinage » (animaux et milieux contaminés). De plus, la contamination de l'environnement et la conservation de jeunes femelles nées de mères infectées sont à l'origine de résurgences dans les cheptels assainis. Parfois enfin, il y a intervention d'autres espèces, comme les ovins et caprins (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

Une fois introduite, l'infection peut se répandre largement et la maladie peut s'exprimer de différentes façons. On observe alors des avortements en série, avec une expression épizootique de la maladie, ou une propagation progressive de l'infection, détectable par sérologies (mode enzootique) (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

Il semble que l'intensification de l'élevage soit un facteur favorisant l'extension de la maladie (Sibille, 2006). L'existence d'un réservoir dans la faune sauvage est difficile à évaluer (la bactérie a été isolée chez le buffle d'Afrique du sud) (Sibille, 2006).

### I.1.3.2 Epidémiologie de la brucellose des autres espèces animales

#### I.1.3.2.1 Chez les petits ruminants

Les espèces affectées sont le plus souvent les ovins et les caprins, qui sont hôtes principaux, mais *Brucella melitensis* peut aussi infecter les bovins, d'autres ruminants domestiques et sauvages, les suidés, les équidés, les carnivores et les rongeurs. La réceptivité des animaux varie avec l'âge (c'est une maladie des adultes) et la race (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Les sources de contagion sont les ovins et caprins malades ou infectés, surtout pendant l'agnelage, et parfois d'autres espèces

animales infectées (le bélier et le bouc peuvent jouer un rôle important dans la dissémination et la persistance de l'infection car ils sont souvent porteurs). Les matières virulentes les plus importantes sont le placenta et le contenu de l'utérus gravide, ainsi que le fœtus né à terme (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). L'invasion de la mamelle se produit parfois, avec une persistance des bactéries chez les femelles des générations suivantes. Les modes de transmission et les voies de pénétration sont les mêmes que pour la brucellose bovine (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). Une contamination directe peut se produire, par contact avec le fœtus et les annexes fœtales, à travers la muqueuse de l'appareil digestif ou respiratoire ou encore à travers la conjonctive. La contamination indirecte se produit par ingestion d'aliment ou d'eau contaminés.

La contamination des cheptels indemnes se fait surtout par la transhumance, ainsi que par les échanges commerciaux et le prêt des béliers ou des boucs. Elle est aussi possible par des pâtures ou des bergeries contaminées (Anonyme, 2004; Sibille, 2006). La diffusion de la maladie se fait par échanges commerciaux, introduction de femelles malades en gestation, prêt de géniteurs, achat de jeunes infectés asymptomatiques lors des concours, expositions ou fêtes. Certains animaux sont résistants à l'infection, d'autres peuvent faire une autolimitation de la maladie, ou encore présenter une maladie latente, ou enfin réaliser une auto guérison (Anonyme, 2004; Sibille, 2006).

Pour le cas de l'épididymite contagieuse du bélier, l'épidémiologie reste la même à la seule différence qu'elle est spécifique à l'espèce ovine.

#### I.1.3.2.2 Chez l'espèce canine

L'espèce concernée est l'espèce canine avec des chiens inapparents ou malades qui éliminent le germe à la faveur des avortements (pendant 1 à 6 semaines) ou à l'occasion des chaleurs dans les secrétions génitales pour les femelles et dans le sperme pour les mâles (Anonyme, 2004). Les matières virulentes sont représentées par des secrétions génitales pour les femelles, le sperme et l'urine. Les mâles peuvent excréter le germe dans le sperme pendant de longues périodes après la fin de la bactériémie, même après négativation des épreuves sérologiques. Les seuls modes de transmission identifiés sont regroupés en transmission directe (cohabitation, voie vénérienne) ou transmission indirecte (ingestion de placentas et autres produits contaminés...). Il faut aussi noter le facteur terrain qui se caractérise par la sensibilité particulière de certaines races de chiens (Anonyme, 2004). Son extension est facilitée par les échanges de reproducteurs (Anonyme, 2004).

#### I.1.3.2.3 Chez l'espèce équine

Les sources sont représentées par les bovins, petits ruminants ou porcs infectés. La transmission d'équidé à équidé est exceptionnelle mais possible (rôle des urines et autres secrétions en période de bactériémie). La transmission est directe (cohabitation avec des bovins, surtout en

période de vêlage, ingestion de lait cru des vaches malades par des poulains...) ou indirecte (pâturages...). Les causes prédisposantes jouent un rôle important dans l'apparition de la maladie (travail intense chez les chevaux de trait, des traumatismes lésant les bourses séreuses ou les synoviales et favorisant la localisation des *Brucella*) (Anonyme, 2004).

C'est une maladie sporadique, affectant surtout les chevaux de ferme en contact avec d'autres espèces infectées (Anonyme, 2004).

### I.1.4 Brucellose zoonose

Egalement appelée Fièvre de Malte, Fièvre Ondulante, ou Fièvre Méditerranéenne, la brucellose est une des zoonoses majeures à travers le monde, avec la tuberculose bovine et la rage (Sibille, 2006). Cette maladie peut avoir un impact important sur la santé animale et humaine, ainsi que socio économiquement, spécialement dans les pays où le revenu agricole repose largement sur l'élevage et les produits laitiers (Sibille, 2006).

L'épidémiologie de la maladie humaine est étroitement liée à l'infection animale (Chakroun et Bouzouaia, 2007). La maladie est due à une exposition au bétail ou à ses productions. La bactérie la plus souvent incriminée est *Brucella melitensis*, puis *Brucella abortus, Brucella suis,* et *Brucella canis* (John *et al.*, 2010). L'infection peut résulter d'un contact direct avec des animaux infectés, ou de la consommation de lait ou de viande crus issus d'animaux infectés. Les voies d'infection sont donc digestive, cutanée (peau lésée), conjonctivale ou respiratoire (Chakroun et Bouzouaia, 2007). Le plus souvent, la contamination se fait par manipulation d'avortons ou d'annexes, ou lors de contacts avec des animaux malades (Sibille, 2006). Elle est donc le plus souvent une maladie professionnelle, touchant éleveurs, vétérinaires, employés d'abattoir et laborantins. L'Homme étant un hôte secondaire ou accidentel, il n'y a pas de transmission interhumaine (John *et al.*, 2010).

Les symptômes sont très variés, avec une maladie plus sévère pour *Brucella melitensis* que pour *Brucella abortus,* la première étant la plus pathogène pour l'Homme et provoquant même de nombreux décès (Sibille, 2006).

La brucellose est asymptomatique dans environ un cas sur deux. Son incubation dure cinq à trente jours ou plus, puis il se développe une maladie plus ou moins sévère (Chakroun et Bouzouaia, 2007).

Dans la forme aiguë, on observe une grande faiblesse, des douleurs musculaires et articulaires, des maux de tête, une forte fièvre (ondulante pour *Brucella abortus* ou fièvre de Malte pour *Brucella melitensis),* des tremblements, une hépatomégalie, une splénomégalie, des sudations nocturnes d'odeur caractéristique, ainsi que des troubles digestifs parfois (constipation) (Seleem *et al.*, 2010). Les localisations cliniques sont donc aussi nombreuses que diverses : ostéoarticulaire, urogénitale, nerveuse, hépatique, cardiovasculaire, glandulaire (Sibille, 2006).

L'évolution est possible sur plusieurs semaines ou mois, et des complications peuvent apparaître, comme des encéphalites, névrites périphériques, arthrites suppurées, endocardites végétantes. La mortalité est négligeable. La forme chronique dure quant à elle plusieurs années, sans foyer d'infection localisée (Seleem *et al.*, 2010). Il existe enfin des réactions d'allergie à *Brucella abortus*, provoquant des lésions cutanées papuleuses ou pustuleuses sur les mains (Sibille, 2006).

La gravité de la brucellose est liée à l'apparition de localisations secondaires pouvant mettre en jeu le pronostic vital, nécessitant une prolongation de l'antibiothérapie (avec doxycycline et rifampicine (ou streptomycine) pendant six semaines) et parfois le recours à la chirurgie (Seleem *et al.*, 2010). On observe alors environ 5% de rechutes pour les meilleurs protocoles (Chakroun et Bouzouaia, 2007). Le meilleur traitement est préventif basé sur des mesures d'hygiène (pour les professionnels, le port de protections est indispensable lors de la manipulation d'avortons, de placentas et de tout produit issu du tractus génital femelle), la sensibilisation de la population, l'éviction de la consommation des produits laitiers non pasteurisés et la vaccination du cheptel (Chakroun et Bouzouaia, 2007). Plus généralement, tout contact avec des animaux suspects de brucellose doit être évité (Sibille, 2006).

## I.2 TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC ET METHODES DE DETERMINATION DE LA PREVALENCE DE LA BRUCELLOSE

### I.2.1 Techniques de diagnostic

#### I.2.1.1 Diagnostic épidémio-clinique

Il est difficile à réaliser car les symptômes de la brucellose sont tardifs et peu spécifiques. En effet, après une longue période asymptomatique, la maladie est sub-clinique chez la plupart des animaux. Cependant, le recueil des commémoratifs du troupeau peut faciliter une suspicion. Le diagnostic de laboratoire est donc toujours nécessaire, par isolement de la bactérie ou la mise en évidence d'anticorps dans le sérum (Sibille, 2006).

Une suspicion de brucellose bovine peut être émise lors de : avortement isolé ou en série, mort d'un veau en anoxie dans les 48h après la mise bas, fréquence anormale des rétentions placentaires, hygromas, et orchite/épididymite chez le mâle (Anonyme, 2004). Pour les petits ruminants, un troupeau est suspecté de brucellose lors d'avortements en phase terminale de gestation, de mortalité post natale, ou d'atteinte des organes génitaux mâles (Sibille, 2006). Enfin, des symptômes chez l'Homme tels que de la fièvre, des boiteries, des douleurs musculaires, doivent

également entraîner une suspicion de brucellose (Sibille, 2006). En fait, tous ces symptômes peuvent être révélateurs de maladies très variées que seul, le recours au laboratoire permet d'identifier (Anonyme, 2004).

#### I.2.1.2 Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de certitude des infections à *Brucella* repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie, mais, lorsque la bactériologie ne peut être mise en œuvre, le diagnostic peut reposer sur la sérologie. Il n'existe pas d'épreuve unique permettant d'identifier une bactérie comme étant une *Brucella*. L'association des caractéristiques de croissance aux résultats d'épreuves sérologiques et bactériologiques est généralement nécessaire (OIE, 2009). Les prélèvements les plus souvent utilisés pour le diagnostic de laboratoire sont : des calottes placentaires, du liquide utérin, l'avorton lors d'un avortement, ou du sang. On utilise aussi parfois du colostrum, du sperme, des sécrétions vaginales, ou du tissu et des nœuds lymphatiques (Sibille, 2006). Le dépistage est possible à partir de sang sur tube sec ou de lait de mélange récolté dans le tank (Sibille, 2006).

##### I.2.1.2.1 Diagnostic bactériologique

Il est réalisé par examen microscopique avec colorations, ou par culture en milieux sélectifs par exemple, permettant une identification de genre et espèce. Les échantillons les plus intéressants pour sa réalisation sont : des cotylédons issus du placenta, des excrétions vaginales, ou du poumon, foie et contenu abomasal du fœtus (Sibille, 2006). Ces prélèvements doivent être fixés avec la chaleur ou l'éthanol avant d'être colorés par les méthodes de Stamp, Köster, ou Macchiavello. L'observation d'agrégats intracellulaires permet alors d'émettre une suspicion de brucellose (OIE, 2009). Mais la morphologie de la bactérie est la même que celle de *Coxiella burnetti*, *Chlamydophila abortus* et des confusions peuvent avoir lieu. Ces bactéries sont résistantes à la décoloration par les acides faibles et apparaissent donc colorées en rouge sur fond bleu par la coloration de Stamp (OIE, 2009; Sibille, 2006).

Cependant, ces méthodes de coloration ont une faible sensibilité lorsqu'elles sont réalisées sur le lait ou les produits laitiers, où les *Brucella* sont souvent présentes en faible nombre et où l'interprétation est rendue difficile par la présence de globules gras. Toute coloration, positive ou non, doit donc être confirmée par une mise en culture (OIE, 2009; Sibille, 2006). Un isolement et une mise en culture de *Brucella* peuvent être réalisés sur milieux solides classiques (Brucella medium base, gélose trypticase ou tryptone-soja), qui limitent la formation de mutants « rough » et le développement de contaminants (OIE, 2009). Cependant, il est recommandé d'utiliser des milieux liquides (milieu de Castañeda) pour les échantillons volumineux ou pour pratiquer un enrichissement (OIE, 2009). La culture sur milieu sélectif (milieu de Farrell préparé par addition de

six antibiotiques à un milieu de culture classique pour le milieu solide ou association milieu de Farell-milieu de Castañeda) permet d'éviter la croissance d'autres espèces de bactéries (OIE, 2009). Un enrichissement peut être pratiqué lorsque la culture est réalisée à partir de prélèvements pauvres en bactéries, comme le lait ou le colostrum (OIE, 2009).

Au bout de trois ou quatre jours d'incubation, des colonies rondes de 1-2 mm de diamètre apparaîtront, bombées, transparentes, de couleur miel, lisses, luisantes, et à contours réguliers. Ces colonies deviennent avec le temps plus grosses et plus foncées (OIE, 2009).

L'identification d'espèce et le biotypage peuvent être réalisés grâce à des techniques de phago-lyse et sur culture bactérienne, à partir de critères biochimiques et sérologiques. Une technique de PCR récemment mise au point permet également la détection et l'identification de *Brucella*, et plusieurs techniques moléculaires, comme la PCR, la PCR-Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP) et Southern blot (OIE, 2009). L'électrophorèse en champs pulsés (PFGE) permet également la différenciation de plusieurs espèces de Brucella (OIE, 2009). Cependant aucune de ces méthodes n'a été complètement évaluée ni standardisée et aucune n'est largement accessible (OIE, 2009). Les souches vaccinales sont identifiables par certaines techniques bactériologiques (Milieux sélectifs), ainsi que par PCR (mais son intérêt est limité) (OIE, 2009).

#### I.2.1.2.2 Le diagnostic sérologique

Aucune épreuve sérologique n'est, à elle seule, appropriée à toutes les situations épidémiologiques. Toutes les épreuves présentent des limites, notamment pour le diagnostic individuel. C'est pour cette raison que tous les animaux infectés ne sont pas détectés. Pour cela, on doit donc prendre en compte tous les facteurs pouvant influer sur la valeur d'une épreuve et/ou des résultats d'une épreuve avant interprétation et application au diagnostic (OIE, 2009).

Le diagnostic et le dépistage sérologiques sont très utilisés, sur sérum, plasma ou lait. Les anticorps détectés sont ceux dirigés contre les épitopes du lipopolysaccharide (LPS), ce qui entraîne des problèmes de parenté entre *Brucella abortus* et d'autres bactéries. En effet, lorsque la prévalence est faible, la valeur prédictive de ces tests diminue car beaucoup de faux positifs apparaissent, notamment à cause d'une réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica*. De plus, l'intensité et la durée de la réponse humorale sont très variables en fonction des individus et des doses infectieuses, avec aussi des variations qualitatives (Sibille, 2006).

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux (décrits dans le Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE) définis par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale, et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits (OIE, 2009). Ainsi, pour la production d'antigènes de diagnostic,

seules les souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *Brucella abortus* peuvent être utilisées. Ces souches doivent être complètement « lisses » et ne doivent pas agglutiner en milieu salin. Elles doivent provenir de cultures pures et se montrer conformes aux caractéristiques de *Brucella abortus* biovar1 d'indépendance vis-à-vis du dioxyde de carbone (CO2) (Sibille, 2006).

#### I.2.1.2.2.1 Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) ou Test au Rose Bengale

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), diluée en tampon acide puis colorée par le Rose Bengale. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, à l'obscurité, et ne doit surtout pas être congelé.

Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*melitensis, suis, abortus)* sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 ±0,05). Le tampon acide permet d'augmenter la spécificité car l'activité agglutinante des immunoglobulines G augmente en pH acide (le Test d'Agglutination de plaque utilise également un antigène brucellique tamponné). C'est une des méthodes les plus faciles à mettre en œuvre et la plus largement utilisée pour la mise en évidence des anticorps brucelliques dans les sérums (Nielsen and Yu, 2010; OIE, 2009; Shey-Njla *et al.*, 2005; Sibille, 2006).

Pour l'interprétation, une absence d'agglutination signifie qu'il n'y a pas d'anticorps dans le sérum, tandis que l'existence d'une agglutination, aussi minime soit-elle, signale la présence d'anticorps anti-*Brucella*. Ce test est très sensible, en particulier chez les animaux vaccinés. En effet, le vaccin peut provoquer une forte réponse en anticorps et interférer alors avec les tests sérologiques. Des faux négatifs peuvent apparaître, et seront détectés en renouvelant le test à moins de trois mois d'intervalle (Sibille, 2006).

Simple et rapide, ce test est donc surtout utilisé en dépistage. Une fixation du complément ou une ELISA sont ensuite nécessaires pour confirmer les positifs ou douteux (OIE, 2009; Sibille, 2006).

Pour les petits ruminants, c'est le test le plus utilisé en dépistage, avec une sensibilité de 90 % et une détection des anticorps plus précoce que pour la fixation du complément (Sibille, 2006). Cependant, la sensibilité de ce test peut beaucoup varier en fonction de la situation épidémiologique de la maladie. Néanmoins, l'EAT est une épreuve adaptée à la surveillance pour le dépistage des troupeaux infectés ou pour garantir l'absence d'infection brucellique en troupeau indemne (OIE, 2009).

#### I.2.1.2.2.2 Epreuve de l'anneau sur le lait ou Milk Ring Test

C'est une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait dirigés contre le lipopolysaccharide bactérien avec un antigène coloré par

l'hématoxyline. Les agglutinats colorés sont adsorbés sur les globules gras et se regroupent en surface dans l'anneau de crème (Sibille, 2006).

Permettant la mise en évidence des anticorps brucelliques dans le lait, cette technique est très simple et bien adaptée à la surveillance épidémiologique des cheptels laitiers (OIE, 2009; Sibille, 2006). Il est préférable d'avoir comme témoins un lait positifs et un lait négatif.

Pour l'interprétation, si l'anneau de crème est moins coloré que le lait sous-jacent, cela signifie qu'il n'y a pas d'anticorps, tandis que si l'anneau de crème est plus ou autant coloré que le lait sous-jacent, des anticorps doivent être présents. Une réaction fortement positive est indiquée par la formation d'un anneau bleu/violet au-dessus d'une colonne de lait, mais tout dépôt bleu à l'interface entre le lait et la crème doit être considéré comme positif car il peut être révélateur, surtout dans les gros troupeaux. Un lait individuel est considéré comme positif à partir de la dilution au 1/8 (OIE, 2009; Sibille, 2006).

Ce test est très sensible, mais des faux positifs peuvent apparaître chez les animaux récemment vaccinés (moins de 4 mois post-vaccin) ou dans des échantillons contenant du lait anormal (colostrum ou lait de mammite) (Sibille, 2006). Quand ce test est positif, il est nécessaire de tester individuellement tous les animaux pour détecter et pouvoir éliminer les malades (Sibille, 2006). Il peut être utilisé pour le dépistage de la brucellose bovine, mais il n'est pas utilisable chez les petits ruminants. Dans les grands troupeaux, sa sensibilité diminue (OIE, 2009; Sibille, 2006).

#### I.2.1.2.2.3 Séro-agglutination de Wright

C'est une technique d'agglutination lente en tubes. Des dilutions de sérum à titrer sont mises en présence de quantités constantes d'antigènes brucelliques, puis ces dilutions sont mises à incuber une nuit à 37°C (OIE, 2009). Lorsque le sérum est positif, il se forme des complexes antigène/anticorps qui précipitent en formant un culot, tandis que le surnageant devient transparent. Lorsque le sérum est négatif, le mélange réactionnel reste opaque. Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu comme test de référence par les organismes internationaux (OIE, 2009).

#### I.2.1.2.2.4 Fixation du Complément

Cette technique est très utilisée comme test de confirmation mais elle est compliquée à réaliser, demande un équipement de laboratoire sophistiqué et une équipe bien formée. La fixation du complément peut être réalisée à chaud (37°C pendant 30 minutes) ou à froid (4°C pendant 14-18 heures), avec des caractéristiques légèrement différentes, à adapter à la qualité des sérums testés (Nielsen and Yu, 2010; OIE, 2009).

Si des anticorps spécifiques de *Brucella abortus* sont présents, il y a absence d'hémolyse, tandis qu'en l'absence de ces anticorps, une hémolyse se produit. Il est indispensable de mettre en place différents témoins pour pouvoir interpréter les réactions : un témoin sérum, un témoin antigène, un témoin complément et un témoin globules rouges.

L'interprétation des résultats est standardisée : il existe un système d'unité pour la lecture, basé sur le sérum standard de l'Office International des Epizooties, qui contient 1000 ICFTU (International Complement Fixation Test Units) par millilitre. Chaque laboratoire pratiquant ce test doit donc être agréé pour que ses résultats soient interprétables suivant les normes internationales. Ainsi, les sérums donnant un titre équivalent à 20 ICFTU/mL ou plus sont considérés comme positifs (Nielsen and Yu, 2010; OIE, 2009).

Ce test est très spécifique, mais certains faux positifs peuvent apparaître à cause du vaccin S19. Les femelles vaccinées avec le vaccin S19 entre 3 et 6 mois sont considérées comme positives si le sérum donne une fixation positive à un titre de 30 ou plus ICFTU/mL lorsque les animaux sont testés à l'âge de 18 mois ou plus (OIE, 2009; Shey-Njla *et al.*, 2005).

#### I.2.1.2.2.5 Epreuve de l'antigène BPA (Buffered Plate Agglutination)

C'est une méthode rapide et facile, utilisant un principe d'agglutination rapide sur lame en milieu acide tamponné (pH 3,7), ce qui permet d'éliminer les agglutinations non spécifiques. Les colorants utilisés sont le cristal violet et le vert brillant (OIE, 2009).

Le sérum est mélangé avec l'antigène, puis la plaque est agitée, avant d'être incubée quatre minutes dans une chambre humide à température ambiante, et ceci deux fois de suite. Ressortie finalement, elle est agitée encore une fois avant d'effectuer la lecture. Lorsque l'antigène coloré en bleu est mis en présence de sérums contenant des anticorps spécifiques, il se forme alors des agglutinats visibles à l'œil nu (OIE, 2009).

Ce test est très sensible, notamment pour la détection d'anticorps vaccinaux, mais les positifs doivent être confirmés par un test plus spécifique (OIE, 2009).

#### I.2.1.2.2.6 ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Pour la réalisation de ce test, le lipopolysaccharide de *Brucella* est fixé sur les parois des puits des microplaques en polypropylène. Les sérums ou laits à tester sont dilués et mis à incuber dans les puits. S'il y a des anticorps spécifiques, il se forme alors des complexes LPS/anticorps fixés sur les parois du puits. Après lavage, une immunoglobuline anti-anticorps couplée à une enzyme est mise à incuber et ce conjugué se fixe sur l'immun complexe. Après un deuxième lavage, le substrat de l'enzyme (TMB) est ajouté dans les puits (OIE, 2009).

Si l'immun complexe est présent, l'enzyme assure la transformation du substrat en un composé bleu, devenant jaune après blocage. L'intensité de la coloration mesure le taux d'anticorps présents dans l'échantillon. Le seuil de positivité est fixé à partir d'un échantillon de contrôle positif à introduire sur chaque microplaque (OIE, 2009).

L'ELISA indirecte est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des vaccinés et est donc plutôt utilisé en dépistage (OIE, 2009). Tandis que l'ELISA de compétition est au contraire très spécifique et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux du vaccin S19. On l'utilise donc pour la confirmation sur des animaux vaccinés (Scolamacchia *et al.*, 2010; Sikder *et al.*, 2012).

#### I.2.1.2.2.7 Fluorescence Polarisation Assay (FPA)

C'est une technique simple et rapide de mesure d'interaction antigène/anticorps qui peut être pratiquée aussi bien en laboratoire que sur le terrain. Elle est recommandée comme test de référence dans le cadre du commerce international (OIE, 2009).

Le mécanisme de ce test est basé sur la rotation aléatoire des molécules en solution. La taille des molécules étant le principal facteur influençant le taux de rotation, qui y est inversement proportionnel, une petite molécule tourne plus vite qu'une grosse. Si une molécule est marquée avec un fluorochrome, le temps de rotation pour faire un angle de 68,5° peut être déterminé en mesurant l'intensité de la lumière polarisée dans des plans horizontaux et verticaux. Une grosse molécule émet ainsi plus de lumière dans un plan simple (plus polarisée) qu'une petite molécule, qui tourne plus vite et qui émet plus de lumière dépolarisée.

La sensibilité et la spécificité de ce test sont proches de celles de l'ELISA de compétition. Sa spécificité pour les animaux vaccinés avec le vaccin S19 est proche de 99%. Cependant, l'interprétation des résultats n'a pas encore été standardisée (OIE, 2009).

#### I.2.1.2.3 Diagnostic allergique

Le dépistage allergique consiste en la mise en évidence de l'immunité cellulaire. C'est une intradermo-réaction à la brucelline. La réaction est considérée positive lorsque l'épaississement du pli cutané, constaté 72h après l'injection, est supérieur à deux millimètres. Cette réaction est spécifique mais peu sensible (beaucoup de faux négatifs) (Fensterbank, 1977).

C'est une réaction d'hypersensibilité retardée suite à l'injection dans le derme de Brucella. Elle est peu utilisée en routine, avec une bonne spécificité mais une sensibilité moyenne. C'est donc un bon test complémentaire des approches sérologiques mais il ne permet pas non plus de différencier un infecté d'un vacciné. Il n'est jamais mis en œuvre en pratique (Sibille, 2006).

Chez les petits ruminants, on pratique une injection par voie sous-cutanée à la paupière inférieure. Une réaction locale nettement positive se produit au bout de 48h chez les infectés : œdème de la paupière et de la région zygomatique. C'est un moyen de dépistage des troupeaux infectés (et non des animaux infectés), car il y a beaucoup de faux négatifs (Sibille, 2006).

### I.2.2 Méthodes de détermination de la prévalence : intérêts et limites

La prévalence d'une maladie ne peut être déterminée que par deux méthodes; la méthode fréquentiliste et celle probabiliste. La méthode fréquentiliste utilise uniquement les informations du terrain et à une certaine mesure les informations fournies par le fabricant sur les tests utilisés. Par contre, la méthode probabiliste utilise en plus des informations du terrain et celles fournies par le fabricant, intègre aussi l'opinion de ou des experts. De ces deux méthodes, on distingue :

- La prévalence apparente
- La prévalence réelle
- La prévalence réelle par l'approche bayésienne

#### I.2.2.1 La prévalence apparente

C'est une prévalence qui est obtenue sur des animaux positifs au(x) test(s) sérologiques utilisés et non sur les animaux malades. Son taux est déterminé suivant la formule : nombre d'animaux positifs/ nombre d'animaux testés (Toma *et al.*, 2001).

Les intervalles de confiance à 95% (IC) des pourcentages ont été établis à partir de la formule suivante :

$$IC = [pA - 1.96 * \sqrt{pA * \frac{qA}{n}} \; ; \; pA + 1.96 * \sqrt{pA * \frac{qA}{n}}]$$

Avec $pA$ la prévalence apparente et $qA$ = (1- $pA$)

$n$ la taille de l'échantillon

Elle peut être déterminée à l'échelle du troupeau mais la formule de son taux devient : nombre de troupeaux ayant au moins un animal positif/nombre total de troupeaux testés. L'inconvénient de la détermination de cette prévalence est qu'elle ne donne pas une idée précise sur la maladie et a une marge d'erreur ou d'incertitude élevée (Toma *et al.*, 2001).

### II.8.1.2 La prévalence réelle

La prévalence réelle peut ensuite être calculée avec la formule suivante (Rogan et Gladen, 1978):

$$\text{P réelle} = \frac{Papparente + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$$

Avec :

*Se*, la sensibilité de chaque test (soit test de dépistage ou test de confirmation)

*Sp*, la spécificité de chaque test (soit test de dépistage ou test de confirmation)

*P*, la prévalence

Cependant, ne connaissant pas les valeurs de sensibilité et de spécificité de notre test de dépistage dans les conditions spécifiques de l'Afrique Subsaharienne en général et des pays en particulier, certains auteurs préfèrent adopter les valeurs fournies par le fabricant. En effet, la détermination d'une sensibilité et d'une spécificité absolue pour l'épreuve à l'antigène tamponné est très difficile car ces valeurs dépendent beaucoup de la situation épidémiologique de la maladie (Boukary *et al.*, 2013; Sibille, 2006). Comme dans la prévalence apparente, l'incertitude est aussi élevée (Toma *et al.*, 2001).

### I.2.2.3 La prévalence réelle par l'approche bayésienne

L'approche bayésienne est une méthode probabiliste utilisée pour estimer la prévalence réelle. Cette technique d'analyse statistique consiste à combiner les résultats des tests sérologiques dans un modèle dit bayésien avec des informations d'experts (information *a priori*) sur la sensibilité et la spécificité des tests utilisés, pour obtenir une estimation de la prévalence réelle *a posteriori* (Sanogo *et al.*, 2008). C'est une analyse qui, à partir d'un modèle mathématique multinomial fait intégrer différentes combinaisons possibles de résultats avec les différents tests sérologiques pour chaque sérum. Ce modèle est basé sur les probabilités conditionnelles (par exemple, la probabilité qu'un individu testé positif au test 2, étant donné qu'il était infecté et positif au test 1) et les éventuelles dépendances conditionnelles entre les tests appliqués dans l'analyse (Sanogo *et al.*, 2008). Les informations *a priori*, utiles pour permettre d'avoir des estimations, sont traduites sous la forme de contraintes sur les valeurs possibles des caractéristiques (sensibilité et spécificité) des tests employés dans ce modèle multinomial. La concordance de celles-ci avec les résultats d'analyse sérologique ainsi que la validation du modèle utilisé sont évaluées parallèlement au cours de l'analyse. Cette analyse peut être réalisée grâce aux logiciels WinBUGS® ou R2WinBUGS® (Boukary *et al.*, 2013; Praet *et al.*, 2006; Rahman *et al.*, 2013; Sanogo *et al.*, 2008; Sanogo *et al.*, 2013). C'est une méthode qui donne des résultats reflétant la réalité avec une certaine précision.

### I.2.3 Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique subsaharienne

La brucellose animale est une des maladies animales dites ré émergeantes et zoonoses. C'est une pathologie qui a été éradiquée dans certains pays qui pratiquent l'élevage à l'échelle industrielle (en Europe, en Amérique du nord et en Asie) recommence de nouveau à gagner du terrain. Cela est dû en partie à la présence des réservoirs sauvages et à des animaux faisant l'objet d'échanges commerciaux au niveau international dont le statut sanitaire n'est pas connu ou provenant des zones endémiques. C'est pour cette raison que les organismes internationaux tels que l'OIE, la FAO et l'OMS l'ont mis dans la liste des maladies prioritaires à éradiquer avec le concept «One World, One Health » comme stratégie de gestion du risque de santé humaine et animale (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013).

En Afrique, certains pays ont eu à la notifier au niveau de l'OIE et continuent même à le faire. Mais pour le Cameroun par manque de rapport indiquant ou faisant état des cas ou des foyers de brucellose, aucune notification n'a été faite. La dernière notification date de 1996 malgré les travaux faits dans certaines régions (Bayemi *et al.*, 2009; Scolamacchia *et al.*, 2010; Shey-Njla *et al.*, 2005).

Les données bibliographiques sur l'infection due à la brucellose en Afrique Subsaharienne (ASS) montrent que les recherches sur cette maladie se sont orientées vers l'espèce bovine et dans une certaine mesure sur les petits ruminants, les autres espèces (dromadaires, porcins et l'homme) étant très peu considérées ou prises en compte. Les données sur la prévalence animale sont reprises dans le tableau I.

Selon les travaux de Mangen *et al.* (2002), basés sur les résultats obtenus au moyen du test de Rose Bengale, la séroprévalence globale de la brucellose bovine en ASS est estimée à 16,2% avec toutefois des variations très importantes allant de 10,2 à 25,7%. Globalement, les différentes investigations menées sur la maladie ont montré que la prévalence de la brucellose animale tant au niveau individuel qu'au niveau des troupeaux varie selon les systèmes d'élevages, les zones géographiques considérées et les méthodes de diagnostic utilisées (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013; Sanogo *et al.*, 2008; Sanogo *et al.*, 2013).

#### I.2.3.1 Variations de la prévalence de la brucellose bovine en fonction des zones géographiques

Le constat fait des différents résultats de recherche récemment effectuée en Afrique Sub-saharienne (Tableaux I et II) montre d'importants écarts inter et intra-régionaux de la séroprévalence individuelle de la brucellose animale. La disparité des données et l'insuffisance de précision quant à la description du contexte et des méthodes de diagnostic utilisées dans un certain

nombre d'études ne permettent pas une comparaison objective des résultats en fonction des différentes zones agro-écologiques. Cependant, les moyennes calculées sur la base des séroprévalences individuelles permettent de distinguer:

- des pays à très forte prévalence allant de 18,0 à 25,0% comme le Togo (Domingo, 2000) ;
- des pays à forte prévalence, allant de 12,5 à 18,0% comme l'Ouganda, la Zambie et la Tanzanie (Chimana *et al.*, 2010 ; Faye *et al.*, 2005 ; Magona *et al.*, 2009 ; Muma *et al.*, 2007 ; Weinhäupl *et al*., 2000) ;
- des pays à prévalence moyenne allant de 6,5 % à 12,5 % qui sont : le Ghana, le Bénin, le Nigeria, le Cameroun, le Soudan, le Burkina Faso, le Niger et la Côte d'Ivoire (Alhaji et Wungak, 2011 ; Boukary *et al.*, 2013 ; Koutinhouin *et al.*, 2003 ; Kubafor *et al.*,2000 ; Sanogo *et al.*, 2013 ; Shey-Njla *et al.*, 2005 ; Traoré *et al.*,2004) ;
- et enfin des pays à plus faible prévalence allant de 0.3 à 6,5 % comme la République Centre Africaine, le Tchad, le Sénégal, le Zimbabwe, l'Ethiopie et l'Erythrée (Delafosse *et al.*, 2002 ; Ibrahim *et al.*, 2010 ; Kouamo *et al.*, 2010 ; Matope *et al.*, 2010 ; Nakouné *et al.* ,2004 Omer *et al*., 2000).

**Tableau I:** Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique Sub-saharienne (Afrique de l'Ouest)

| Pays | Système d'élevage | Espèce | Talle de l'échantillon | Type de test | Prévalence | Espèces de Brucella isolées | Facteurs de risque | Auteurs |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | ***Afrique de l'Ouest*** | | | | |
| **Benin** | Ranchs d'Etat | Bovins | 11609 | ELISA, FC, RB | 1,91% | NS | NS | Adehan *et al.*, 2005 |
| | Pastoral | Bovins | 701 | ELISA<br>RB | 15,2 %<br>6,20% | NS | Antenne, classe d'âge et le test. | Koutinhouin *et al.*, 2003 |
| **Burkina Faso** | Périurbain | Bovins | 1107 | | 8,0% | NS | NS | Coulibaly et Yaméogo, 2000 |
| | Urbain | Bovins | 290 | RB | 13,2% | NS | Age, sexe | Traoré *et al.*, 2004 |
| **Côte d'ivoire** | Régions du N'Zi Comoé et des Lacs | Bovins | 660 | RB, ELISA, SAW | 8,8% | NS | NS | Sanogo *et al.*, 2008 |
| | Zones de la savane et forestière, centre du pays | Bovins | 995 | RB, ELISA | 4,6% | NS | NS | Sanogo *et al.*, 2013 |
| | Zones soudanaise, guinéenne et soudano-guinéenne | Bovins | 907 | RB, ELISA | 10,3% | NS | Age, taille du troupeau | Sanogo *et al.*, 2012 |
| **Ghana** | Zone forestière | Bovins | 183 | RB | 6,6% | NS | NS | Kubafor *et al.*,2000 |
| | Mixte | Bovins | 183 | RB | 6,6% | NS | NS | |
| **Niger** | Périurbain | Bovins<br>Ovins<br>Caprins | 380<br>75<br>80 | RT<br>RT<br>RT | 20,8%<br>6,67%<br>6,25% | NS | NS | Adamou, 2008 |
| | Urbains et périurbains de Niamey et ruraux du pays | Bovins<br>Ovins<br>Caprins | 3170<br>1186<br>839 | ELISA<br>ELISA<br>ELISA | 1- 4,5%<br>1,3- 3,4% | *B. abortus biovar 3* | Zone, âge, sexe | Boukary *et al.*, 2013 |
| **Nigeria** | Etats d'Anambra, d'Enugu et d'Ebonyi, au sud du Nigeria | Porcins | 351 | RBPT | 0.6% | *Brucella abortus* et *Brucella melitensis* | Sexe et âge | Onunkwo *et al., 2011* |
| | Bobi grazing reserve, Paiko et Eyagi, Etat du Niger | Bovins | 87 | RBPT | 10,35% | NS | Localité | Alhaji et Wungak, 2011 |
| **Sénégal** | Région de Thiès | Bovins | 132 | RB, ELISA | 1,5% | NS | Facteurs épidémiologiques (race, âge, note d'état corporel et mode d'élevage) | Kouamo *et al.*, 2010 |
| **Togo** | Mixte | Bovins | 1 112 | NS | 35,5-51,9% | NS | NS | Domingo, 2000 |

**NS :** Non Signalé

**Tableau II :** Prévalence de la brucellose animale et facteurs de risque en Afrique Sub-saharienne (Afrique de l'Est, Centrale et Australe)

| Pays | Système d'élevage | Espèce | Talle de l'échantillon | Type de test | Prévalence | Espèces de Brucella isolées | Facteurs de risque | Auteurs |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Afrique centrale** | | | | | | | | |
| **Cameroun** | Mixte | Bovins | 298 | ELISA | 8,40% | NS | Age, sexe et localité | Bayemi et al., 2009 |
| | Abattoir de Dschang | Bovins | 840 | RB, ELISA, SAW, FC | 5-10% | NS | NS | Shey-Njla *et al.*, 2005 |
| | Région de l'Adamaoua | Bovins | 1377 | ELISA | 3-16% | NS | NS | Scolamacchia *et al.*, 2010 |
| | Zones agro-écologiques II et III | Bovins | 1562 | RBPT | 4,6-16% | NS | Zone agro écologique, interaction avec la faune sauvage, l'historique des avortements, taille du troupeau, race | Ojong, 2011 |
| | Région de l'Adamaoua | Bovins | 1377 | ELISA | 3 à 16% | NS | Age, mode d'élevage | Mazeri *et al.*, 2013 |
| **Rép. Centrafricaine** | Pastoral | Bovins | 2.032 | RB | 3,30% | NS | NS | Nakouné *et al.* ,2004 |
| **Tchad** | Périurbain | Bovins | 634 | FC | 2,60% | NS | Age, ethnie, propriétaire, surveillance des animaux | Delafosse *et al.*, 2002 |
| **Afrique de l'est** | | | | | | | | |
| **Erythrée** | Pastoral | Bovins | 2.427 | RB, FC | 5,60% | NS | NS | Omer *et al.*, 2000 |
| **Ethiopie** | Mixte | Bovins | 1.595 | RB | 3,10% | NS | NS | Ibrahim *et al.*, 2010 |
| | Pastoral | Ovins et caprins | 2000 | RBT<br>ELISA | 1,9%<br>9,7% | NS | District, espèce, mode d'élevage et sexe | Teshale *et al.*, 2006 |
| | Pastoral | Ovins | 563 | RB | 3,20% | NS | NS | Ashenafi *et al.*, 2007 |
| | Urbain + pastoral | Bovins | 456 | RT, ELISA | 0-10% | NS | NS | Arimi *et al.*, 2005 |
| **Ouganda** | Pastoral | Bovins | 497 | ELISA | 34,0% | NS | NS | Magona *et al.*, 2009 |
| | Fermes laitières | Bovins | 226 | ELISA | 3,3% | NS | NS | |
| | Pastoral | Bovins | 10 529 | RB | 15,8% | NS | NS | Faye *et al.*, 2005 |
| **Soudan** | Pastoral | Camelins | 3 413 | ELISA, RB, RT | 7,3- 8,1% | NS | NS | Musa et Shigidi, 2001 |
| **Tanzanie** | Mixte | Bovins | 2 289 | SAW | 14,0% | NS | NS | Weinhäupl *et al.*, 2000 |
| **Afrique australe** | | | | | | | | |
| **Zimbabwe** | Mixte | Bovins | NS | RB, ELISA | 5,6% | NS | NS | Matope *et al.*, 2010 |
| **Zambie** | Pastoral | Bovins | 886 | RB, ELISA | 23,9% | NS | NS | Muma *et al.*, 2007 |
| | Pastoral | Bovins | 48 | RB, ELISA | 18,7% | NS | NS | Chimana *et al.*, 2010 |
| | Périurbain | Bovins | 849 | RB, ELISA | 7,9% | NS | NS | |

**NS** : Non Signalé

### I.2.3.2 Facteurs de variation de la prévalence de la brucellose animale en Afrique Subsaharienne (ASS)

L'examen des données bibliographiques disponibles sur la brucellose en Afrique Subsaharienne montre bien une grande variabilité de la séroprévalence et la difficulté de comparer les résultats obtenus par les différents chercheurs. Cette variabilité peut être attribuée à des facteurs extrinsèques attribuables à l'environnement, à l'action humaine (mode de conduite des animaux) et à la méthodologie de la recherche ainsi qu'à des facteurs intrinsèques liés à l'animal et aux caractéristiques spécifiques de l'agent pathogène (Tableaux I et II).

#### I.2.3.2.1 Facteurs extrinsèques

##### I.2.3.2.1.1 Facteurs liées à la méthodologie de recherche

Les échantillonnages généralement effectués ne sont pas représentatifs sur le plan statistique du fait de l'absence de bases de sondage ou de leur imperfection. En plus, l'insuffisance de précision ou le manque de détails sur les limites des zones d'étude, sur les conditions de prélèvement et d'analyse et sur les systèmes d'élevage sont autant de biais pour une bonne interprétation des études réalisées et n'autorise pas la mise sur pied de méta-analyse (Boukary, 2013).

Un autre problème important souligné par plusieurs auteurs est la différence de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques utilisés pour le dépistage. C'est l'un des facteurs qui contribue le plus à la variabilité des résultats entre chercheurs (Boukary, 2013; Mangen *et al.*, 2002; Nielsen and Yu, 2010; Sanogo *et al.*, 2013; Shey-Njla *et al.*, 2005).

Pour une meilleure interprétation et comparaison des résultats, il serait judicieux d'appuyer les programmes de recherche nationaux des pays de l'Afrique Subsaharienne par la mise au point d'une méthodologie efficiente et peu coûteuse (Praet *et al.*, 2006; Praud, 2012). En effet, ce qui importe pour le gestionnaire de la santé, c'est la prévalence réelle, or les prévalences obtenues par des tests sérologiques ne donnent qu'une idée de la prévalence apparente de la maladie. Une alternative consiste en l'usage d'une approche bayésienne qui permet d'estimer la prévalence réelle en prenant en compte les résultats de plusieurs tests de diagnostic effectués en parallèle mais aussi un ensemble de facteurs pouvant influer sur ces résultats (Boukary, 2013; Praud, 2012; Sanogo *et al.*, 2013).

##### I.2.3.2.1.2 Facteurs liés à l'environnement, aux systèmes et au mode d'élevage

Les facteurs environnementaux ayant un impact sur la transmission de la brucellose à l'échelle des troupeaux sont surtout ceux liés au climat et aux modes de vie de la population.

Concernant les effets climatiques, il apparaît que les facteurs de risque de transmission de la brucellose en Afrique Subsaharienne varient en fonction des zones géographiques, donc du gradient pluviométrique (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013; Mangen *et al.*, 2002; Sanogo *et al.*, 2012).

S'agissant des facteurs liés aux modes d'élevage, il a été prouvé qu'ils sont fortement liés aux modes de vie de la population. En effet, il apparait que les systèmes d'exploitation de type périurbain et urbain, de type extensif avec des grands effectifs, des troupeaux mixtes comportant des bovins et des petits ruminants, la transhumance des troupeaux pastoraux, la fréquence des avortements et l'interface faune sauvage et animaux domestiques constituent dans une certaine mesure les principaux facteurs de dissémination, de propagation, de transmission de la brucellose animale soit entre les animaux ou soit des animaux à l'homme (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013; Sanogo *et al.*, 2012).

Mais, il convient de noter que le rôle de faune sauvage dans l'épidémiologie de la brucellose animale en Afrique Subsaharienne reste à déterminer, en particulier en ce qui concerne le nombre de cas et le degré de contact entre les animaux sauvages et domestiques (Sanogo *et al.*, 2012).

#### I.2.3.2.2 Facteurs intrinsèques

La synthèse de certaines études a montré que les facteurs liés à l'animal ne sont pas dans une certaine mesure indépendants des facteurs extrinsèques. Ces facteurs permettent de déterminer en quelque sorte la prévalence individuelle au niveau animal. Les facteurs intrinsèques les plus cités sont repris ci-dessous (Boukary, 2013).

##### I.2.3.2.2.1 La race

Ici aussi les opinions varient fort dans la littérature. Certains auteurs mettent en évidence la plus grande sensibilité des taurins par rapport aux zébus tandis que d'autres soutiennent le contraire. Cependant, il ressort que les animaux métis issus de croisement entre les races locales de zébu et de taurins ont une plus grande sensibilité à l'infection brucellique comparativement aux races pures (Akakpo et Ndour, 2013; Boukary, 2013).

##### I.2.3.2.2.2 Le sexe

Les résultats sur l'effet du sexe sont aussi contradictoires. Plusieurs auteurs ont des idées partagées à la suite des résultats qu'ils ont obtenus lors de leurs études respectives. Trois groupes se sont formés à savoir un premier groupe a trouvé qu'il n'a pas trouvé de différence significative de prévalence d'infection brucellique en fonction du sexe (Akakpo *et al.*, 2009; Boukary *et al.*, 2013), contrairement au second qui a rapporté que la séroprévalence est beaucoup plus élevée chez les femelles que chez les mâles (Faye *et al.*, 2005; Traore *et al.*, 2004) et enfin le troisième groupe qui a

trouvé une séroprévalence de la brucellose significativement plus élevée chez les mâles que chez les femelles (Chimana *et al.*, 2010).

#### I.2.3.2.2.3 L'âge

Plusieurs études menées en Afrique Subsaharienne ont montré que la prévalence individuelle de la brucellose est corrélée avec l'âge des animaux. Elle est significativement plus élevée chez les animaux âgés par rapport aux jeunes animaux. Cette prévalence plus élevée chez les animaux âgés correspond logiquement à une probabilité plus grande d'exposition à l'infection et d'un développement de la maladie plus élevé avec l'âge (Boukary *et al.*, 2013; Delafosse *et al.*, 2002; Kouamo *et al.*, 2010; Mazeri *et al.*, 2013; Sanogo *et al.*, 2012).

#### I.2.3.2.2.4 L'état physiologique

Les différentes études réalisées à ce sujet n'ont pas établi une relation claire entre l'état physiologique de l'animal et son statut sérologique. Cependant, il apparait que chez les femelles laitières, la susceptibilité à l'infection brucellique est corrélée au niveau de production (laitière) et à l'état général de l'animal (Kouamo *et al.*, 2010).

# Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

## II.1 ZONE D'ETUDE

La zone d'étude comprend les régions du Nord et de l'Adamaoua (figure 1). Elle est située entre les 6°et 10° de latitude Nord et entre les 11° et 16° de longitude Est. Elle est limitée au Nord par la région de l'Extrême-Nord, au Sud par les régions du Centre, du Nord-Ouest et de l'Est, à l'Est par les Républiques du Tchad et de Centrafrique et à l'Ouest, la République Fédérale du Nigeria. Cette zone couvre les régions de l'Adamaoua et du Nord situées respectivement dans les deux grandes zones agro-écologiques II et I à savoir :

- La zone I : zone soudano-sahélienne;
- La zone II : zone des hautes savanes guinéennes.

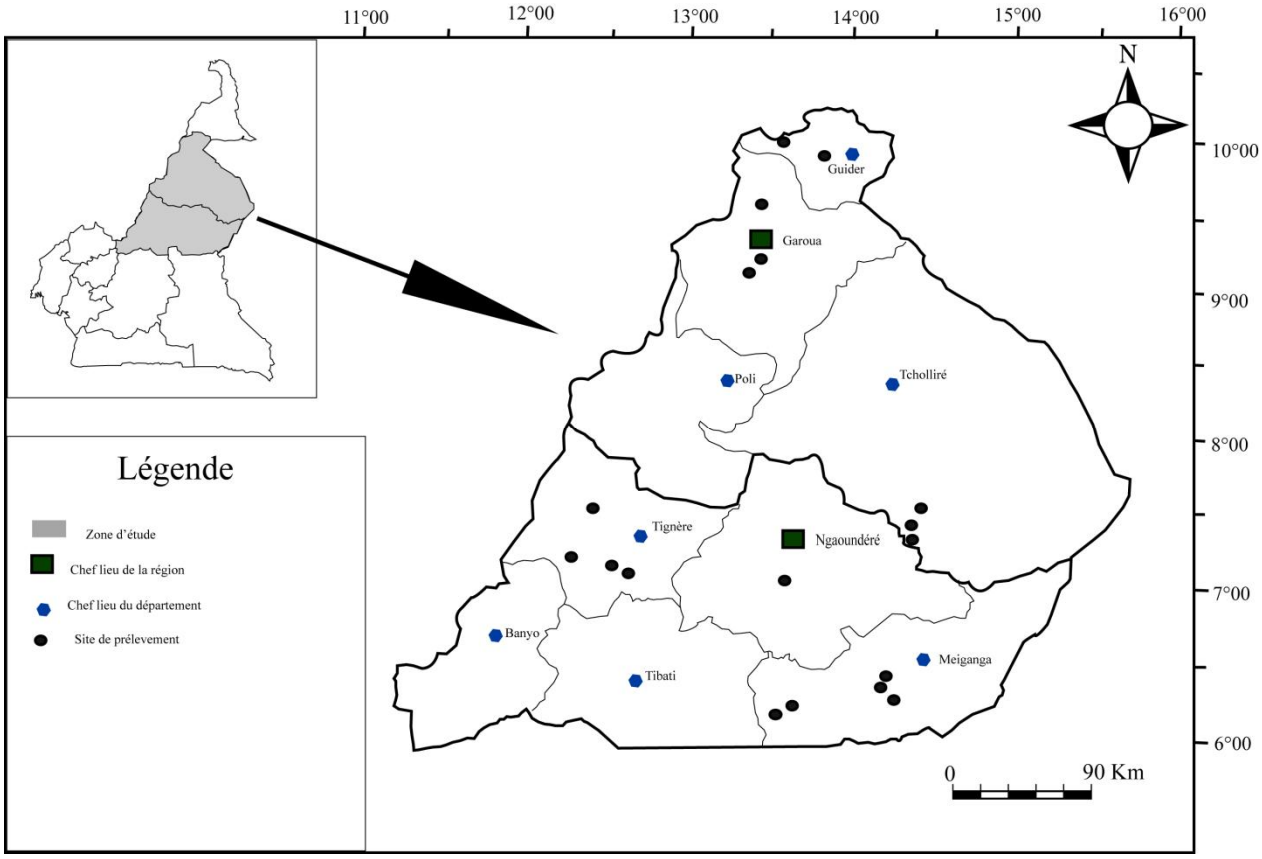



**Figure 1:** Carte de la zone d'étude (régions du Nord et de l'Adamaoua)

### II.1.1 Zone soudano sahélienne

La zone soudano-sahélienne, ou zone I, est comprise entre les 8$^{ème}$ et 13$^{ème}$ degrés de latitude nord. Elle comprend les Monts Mandara, les plaines de l'Extrême-Nord et la Vallée de la Bénoué. Elle s'étend sur 102.680 km² et connaît sur le plan climatique des précipitations annuelles de 400 à

900 mm concentrées sur 4 mois (de juillet à octobre). Les températures moyennes sont voisines de 28°C, avec des écarts thermiques très importants (7,7°C moyenne annuelle). Les sols sont généralement vertiques, argilo-sableux ou halomorphes (hardés).

La Zone Soudano-Sahélienne se caractérise par des écosystèmes fragiles, une forte densité des populations et une forte pression foncière. Elle abrite des aires protégées et la plupart des zones de chasse du pays. Elle est soumise aux effets néfastes de la sécheresse exacerbée notamment par la déforestation et l'érosion des sols, et offre des potentialités énormes de foresterie sociale et d'agroforesterie, qui permettent de pallier aux besoins des populations en bois-énergie en même temps qu'elles contribuent à la lutte contre la désertification.

### II.1.2 Zone des hautes savanes guinéennes

La zone des savanes guinéennes (zone II) se situe entre les 4ème et 8ème degrés de latitude nord. Elle comprend la savane d'altitude de l'Adamaoua, les savanes basses du Centre et de l'Est et la Plaine Tikar. Son climat est de type tropical à pluviométrie bimodale dans les savanes basses du Centre et de l'Est et monomodale (une saison sèche et une saison humide) dans le reste de la zone. Les précipitations sont comprises entre 1200 et 1600 mm/an. La zone II couvre environ 138 000 $km^2$. La densité de population est de l'ordre de 11 hab./$km^2$ (projection de 15.5 hab./$km^2$ en 2010). La zone est propice aux activités pastorales et notamment l'élevage bovin qui y regroupe 40% du cheptel national. Le système d'élevage est à 80% transhumant.

L'absence de zonage de l'espace rural de la région est l'une des causes de la gestion déficiente de l'espace pastoral. La méconnaissance des ressources et la difficulté d'une planification de leur utilisation ou de leur aménagement en vue d'une exploitation optimale (points d'eau, mise en défens, parcs de contention.), limitent l'intensification de la production.

Les sites des enquêtes sur la connaissance des éleveurs par rapport à la brucellose bovine et les prélèvements sanguins, ont été repartis dans ces deux régions (zones agro-écologiques) :

- Zone I : département du Mayo Rey, département du Mayo Louti et département de la Bénoué ;
- Zone II : département de la Vina, département du Mbéré et département du Faro et Déo.

Le choix de ces deux régions vient du fait que ces dernières font partie des zones retenues pour la première phase de la composante Appui au Développement de la Filière Laitière du Programme d'Amélioration de la Productivité Agricole (PAPA/ADFL). Il faut aussi ajouter que le choix des sites de prélèvements s'est fait à travers les statistiques recueillies lors de la campagne de

vaccination 2012, faisant de celles-ci les principales zones de production de viande et de lait (MINEPIA, 2012).

## II.2 ELEVAGE DANS LES REGIONS DE L'ADAMAOUA ET DU NORD

Le secteur de l'élevage s'impose actuellement comme une valeur sûre et essentielle de l'économie camerounaise. Le produit intérieur brut (PIB) du secteur de l'élevage est estimé à 139,8 milliards de F CFA en 1999/2000, soit 10% du PIB du secteur primaire. Ce sous/secteur procure des revenus à près de 30% de la population rurale (Anonyme, 2011). Sur le plan socio-économique, l'élevage joue un rôle d'épargne et contribue fortement à l'amélioration de la production agricole, notamment dans les zones à forte densité démographique où le maintien de la fertilité des sols, la réalisation de certains travaux agricoles et le transport rural sont assurés par le bétail (bovins, asins, équins) (Anonyme, 2011). La présentation du secteur de l'élevage dans les régions de l'Adamaoua et du Nord est représentée dans le tableau 2. L'élevage bovin dans la zone d'étude est la deuxième activité économique après la culture cotonnière dans le secteur agricole (MINEPIA, 2012). Il convient de noter que l'élevage du bétail dans cette partie est une activité de prestige, de notoriété pour certains et de commerce pour d'autres.

- Son effectif est estimé à 1.115.050 bovins pour l'Adamaoua et 322.388 bovins pour le Nord pour un total de 1.437.438 bovins pour la zone d'étude (MINEPIA, 2012) ;
- La zone d'élevage comprend les zones agro-écologiques soudano-sahélienne et des hautes savanes guinéennes ;
- Les espèces bovines rencontrées dans la zone d'étude sont le zébu (*Bos indicus*) avec les races comme le Gudali, le Bororo rouge (Djafon), le Bororo blanc (Akou) et le taurin (*Bos taurus*) avec la race Namchi. Il convient de noter la présence des métis entre nos races locales avec les races taurines exotiques comme la Montbéliarde, la Holstein et la Charolaise ;
- En matière d'élevage bovin, le système extensif d'exploitation reste prédominant, matérialisé sur le terrain par trois variantes :
  - Le pastoralisme pur (environ 30% du cheptel) où l'élevage est la principale sinon la seule activité de l'éleveur (cas des M'Bororo) ;
  - L'Agro-pastoralisme : plus répandu (près de 65% du cheptel), une grande majorité d'éleveurs pratiquant en même temps l'agriculture ;
  - Le Ranching qui a connu un grand essor pendant les plans viande I et II. Ce mode d'exploitation qui représente environ 5% du cheptel est surtout présent dans l'Adamaoua. Il faut noter ici les faibles productivités des ranchs privés comme publics.

**Tableau III:** Caractéristiques de l'élevage dans les régions du Nord et de l'Adamaoua

| Filières | | Ruminants | | | Porcins | Camélidés et équidés | Aviculture | Elevage non conventionnel |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Bovins | Ovins | Caprins | | | | |
| Cheptel | Ad | 1.115.050 | 113.077 | 85.901 | 7.906 | Cheval : 2.675<br>Ane : 8.937 | 508.518 | 8.132 |
| | N | 322.388 | 152.109 | 199.150 | 28.395 | Cheval : 1.897<br>Ane : 16.105<br>Chameau : 37 | 152.334 | 24.049 |
| Zone d'élevage | | Zones I et II | Zones I et II | Zones I et II | Zones I et II | Zone I prédominante | Zones I et II | Zones I et II |
| Espèces | | Zébu (Gudali, Bororo, Peul)<br>Taurin (Nanchi)<br>Races exotiques : Montbéliarde, Holstein et Charolaise | Djalonké, Sahélien et Peul | Djalonké, Sahélien et Chèvre rousse | Races locales, Métisses (races locales X Large white/Land race | Races locales | Souches locales<br>Souches exotiques | Primates, félins, canins, aulacodes, lapins, cochons d'Inde et escargots |
| Dispositif d'élevage | | Pastoralisme, agropastoralisme et ranching | Divagation | Divagation | Divagation et semi-système | Semi-intensif | Traditionnel<br>Moderne (semi-intensif et intensif) | Semi-intensif |

**Ad :** Adamaoua et **N :** Nord. **NB :** zones I et II correspondent respectivement aux zones agro écologiques soudano-sahélienne et des hautes savanes guinéennes.

*Source* : (MINEPIA, 2012)

## II.3 ECHANTILLONNAGE

La base de sondage a été élaborée à partir du répertoire du programme PAPA/ADFL du MINEPIA (liste des participants volontaires au programme de sélection et d'amélioration génétiques des races locales Gudali pour la région de l'Adamaoua et Fulani pour les régions de l'Extrême-Nord et du Nord). La zone d'action du programme PAPA/ADFL couvre les trois régions septentrionales (Adamaoua, Nord et Extrême-Nord). Par manque de moyens logistiques, nous n'avons pas pu couvrir la région de l'Extrême-Nord. A la suite d'une phase préparatoire, une liste de 338 participants a été répertoriée pour constituer la base de notre sondage. Le choix des différents niveaux dans le type de sondage adopté, a été raisonné selon la faisabilité des travaux de prélèvements et la zone d'action du programme. C'est pour cette raison que la répartition de l'échantillon ne fut pas égale dans les différents sites. En plus, les travaux n'ont couvert seulement que quelques départements (3 départements par région).

La méthode d'échantillonnage retenue dans le cadre de notre étude est la méthode pseudo-aléatoire avec un sondage de type stratifié à 3 niveaux :

- Le choix des régions ;
- Le choix des départements ;
- Le choix des troupeaux.

Les animaux ont été choisis de façon aléatoire au sein d'un nombre de troupeaux préalablement sélectionnés, soit 10 à 20 animaux prélevés suivant les critères d'inclusion et en fonction de la taille du troupeau (taille variant de 20 à 80 animaux dans la zone d'étude). L'unité épidémiologique choisie dans le cadre de cette étude est le troupeau. Comme critères d'inclusion, les animaux faisant l'objet de prélèvement sont constitués essentiellement d'animaux en âge de reproduction (animaux pubères et adultes) et ayant séjourné au moins un an dans la zone d'étude. Le choix de cette catégorie d'animaux est due au fait que c'est à cet âge que les bovins sont mis en reproduction.

La taille minimale de l'échantillon (52 troupeaux) a été déterminée à partir de la prévalence de la brucellose bovine au niveau du troupeau qui était de 16% (Scolamacchia *et al.*, 2010) dans la région de l'Adamaoua en utilisant la formule de Lorentz (Thrusfield, 2007) :

$$n = \frac{Z^2_{\alpha * P(1-P)}}{\alpha^2}$$

$\boldsymbol{Z_\alpha}$ est la surface où l'on retrouve 1- α de la courbe normale ($Z_\alpha$) et donc 1,96 lorsque le seuil de confiance accepté est de 95% ;

***P*** est la prévalence d'une maladie ou la proportion de cas d'une maladie au sein d'une population donnée ;

***α*** est la précision que l'on est prêt à accepter. Celle choisie dans le cadre de notre étude est de 10%

***n*** est la taille de l'échantillon.

## II.4 EVALUATION DU NIVEAU DE CONNAISSANCE DES ELEVEURS PAR RAPPORT A LA BRUCELLOSE BOVINE

Le questionnaire a été administré par le mode d'interview (questions-réponses) à tous les éleveurs volontaires et chez qui des animaux ont été choisis. Ce questionnaire est structuré en trois parties et vise à évaluer le niveau de connaissance des éleveurs sur la brucellose bovine au Cameroun (Annexe 1). La première concerne les informations sur le participant, puis les interactions avec les autres animaux et enfin la connaissance sur la brucellose bovine.

Ce questionnaire a été rédigé en prenant soin de ne poser que des questions fermées et semi-fermées afin d'être le plus objectif possible. Il convient de noter que le questionnaire a été soumis à des séances de pré-test auprès de quelques éleveurs de l'arrondissement de Ngaoundéré III.

Toutes ces informations ont été enregistrées dans le programme Le Sphinx Plus[2].

## II.5 PRELEVEMENTS

Le sang est prélevé au niveau de la veine jugulaire dans un tube sec sous vide. La contention des animaux est faite par les éleveurs, le plus souvent à l'aide d'une simple corde et parfois dans des enclos avec couloirs de contention.

A chaque prise de sang, le tube est numéroté et son numéro reporté sur une fiche d'identification dûment remplie (Annexe 2). Cette fiche d'identification comporte les informations suivantes : la race, l'âge, le sexe, la robe, la note d'état corporel, l'origine, le numéro d'identification, les particularités, le logement, l'environnement et le passé sanitaire et thérapeutique. Toutes ces informations ont été enregistrées dans la base de données du programme Excel de Microsoft Office 2010. Le sang ainsi prélevé est conservé à une température ambiante ou une température de + 4°C.

## II.6 COLLECTE, TRAITEMENT ET CONSERVATION DES DONNEES BIOLOGIQUES

Les tubes contenant du sang sont transportés des différents sites de prélèvement à l'aide d'un thermocool contenant des carboglaces vers le laboratoire pour traitement. Une fois au laboratoire, ces tubes sont placés dans une centrifugeuse et soumis à une vitesse de 3500 trs/min pendant une durée de 5 minutes. Après centrifugation, on obtient deux phases ; le sérum et le coagulât. Le sérum est séparé du coagulât à l'aide d'une pipette pasteur et transféré dans un tube eppendorf pour conservation. La conservation de ces données biologiques se fait à une température de – 20°C jusqu'au jour de l'analyse.

## II.7 EXAMENS SEROLOGIQUES

Tous les sérums issus des prélèvements sanguins ont été soumis successivement à deux tests sérologiques à savoir : Epreuve à l'antigène tamponné ou Rose Bengale et ELISA indirect.

### II.7.1 L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) ou Rose Bengale

C'est un test sérologique utilisé généralement pour le dépistage de la brucellose produit par le laboratoire IDvet France (annexe 3). Le principe de ce test est basé sur la réaction de séroagglutination due à la formation du complexe anticorps-antigène.

Le protocole de réalisation suivi est celui décrit par le manuel de diagnostics de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE, 2009) :

- Placer l'antigène et les sérums à température ambiante sur une plaque munie de 10 puits, déposer 30 µL de chaque sérum à tester ;
- Agiter le flacon d'antigène et en déposer 30 µL à côté de chacun des sérums ;
- Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum à l'aide d'un petit bâton propre ou d'embouts stériles ;
- Agiter la plaque pendant 4 minutes ***exactement*** et lire ***immédiatement***: en présence d'anticorps, il se produit une agglutination visible à l'œil nu, tandis qu'en l'absence d'anticorps, le mélange reste homogène (Photo 1).

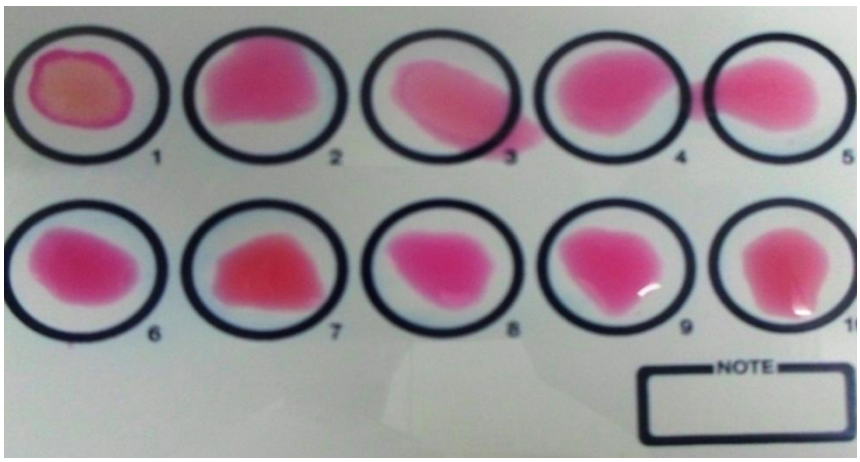



**Photo 1:** Séroagglutination dans le puits n°1 après 4 minutes d'agitation

### II.7.2 L'ELISA indirect

Le test de confirmation utilisé est celui défini par l'OIE, à savoir le test de l'ELISA indirect (Photo 2 et figure 2) (OIE, 2009). Le kit d'ELISA indirect a été fabriqué par le laboratoire IDvet-France (Annexe 4).

**Photo 2 :** Kit ELISA indirect

Le test de l'ELISA indirect est utilisé pour la détection d'antigènes ou d'anticorps. Dans le cas de la détection d'un anticorps, cet anticorps va être fixé spécifiquement sur des antigènes tapissant un support et révélé par un second anticorps, dit de détection, couplé à une enzyme qui va induire la coloration d'un substrat (Photo 4).

Le principe de ce test est illustré à travers la figure ci-dessous.

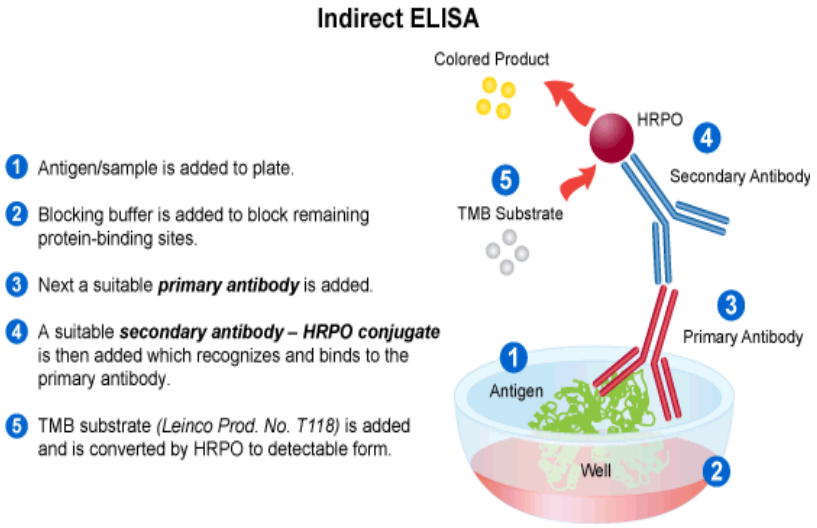



**Figure 2 :** Principe de l'Elisa indirect

***Source :*** http://www.google.com/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.afd-ld.org.

Le protocole du test ELISA indirect est présenté comme suit :

Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C ± 5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

- Distribuer :

- 190µl de Tampon de Dilution 2 dans chaque puits ;
- 10µl de Contrôle Négatif (CN) dans les cupules A1 et B1 (Photo 3) ;
- 10µl de Contrôle Positif (CP) dans les cupules C1 et D1 (Photo 3) ;
- 10µl de chaque échantillon ou mélange de 10 sérums à tester dans les cupules restantes

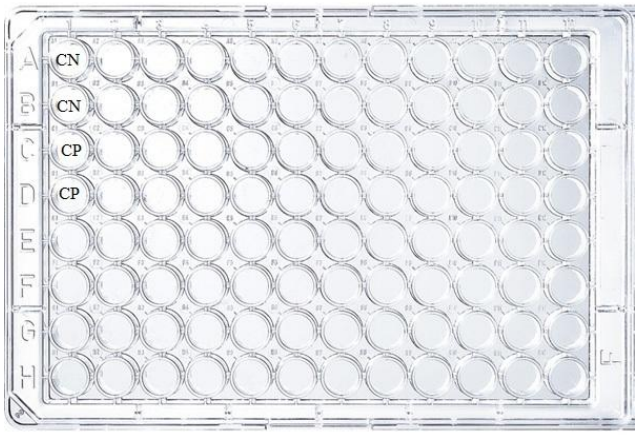



**Photo 3 :** Distribution des contrôles positif et négatif dans les cupules A1, B1, C1 et D1

- Incuber 45 min* (± 4 min) a 21°C (±5°C) ;

*Pour les sérums individuels uniquement, il est aussi possible de réaliser une incubation de nuit (protocole long), entre 16 et 20 heures à 21°C (± 5°C) (Photo 4).

- Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 µl de Solution de lavage. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages ;
- Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué (10X) au 1 :10 (protocole court) ou au 1:20 (protocole long – sérums individuels uniquement) en Tampon de Dilution 3
- Distribuer 100 µl de Conjugué 1X dilué dans chaque cupule ;
- Incuber 30 min ± 3 min à 21°C (±5°C) ;
- Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 µl de Solution de lavage ;
- Distribuer 100 µl de Solution de révélation dans chaque cupule ;
- Incuber 15 min ± 2 min à 21°C (±5°C) à l'obscurité ;
- Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

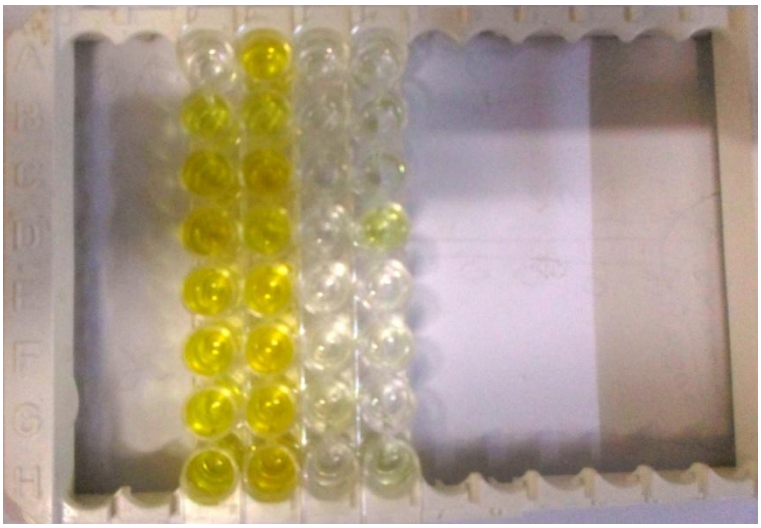


**Photo 4 :** Identification de quelques cas positifs (couleur jaune) après addition de la solution d'arrêt dans les différentes cupules

L'interprétation se fait après avoir effectué des calculs pour la détermination du pourcentage de l'échantillon positif (S/P%) de chaque échantillon à partir des moyennes des densités optiques (DO).

$$\frac{S}{P}\% = \frac{DO\ échantillon - DO\ CN}{DO\ CP - DOCN} \times 100$$

- Pour sérum ou plasma individuels, incubation courte ou de nuit:

Les échantillons présentant un S/P% :

- inférieur ou égal à 110 % sont considérés comme négatifs.
- supérieur à 110% et inférieur à 120% sont considérés comme douteux.
- supérieur ou égal à 120% sont considérés comme positifs.

Le principe de l'interprétation des tests en parallèle, selon lequel un animal est considéré malade si et seulement si tous les tests sont positifs (à l'un des tests ou aux deux tests) augmente la sensibilité et la spécificité diagnostique. C'est pour cette raison que les caractéristiques de chaque test sont prises individuellement (Sanogo *et al.*, 2013). Les séquences en parallèle sont plus coûteuses car chaque animal est soumis à deux tests, mais elles permettent un gain de temps appréciable pour l'obtention des résultats (Praud, 2012).

## II.8 ANALYSE DES DONNEES

### II.8.1 Calculs des prévalences

#### II.8.1.1 Prévalence apparence

Les calculs de prévalence sont effectués en utilisant la formule suivante :

***Prévalence apparente individuelle = nombre d'animaux positifs/ nombre d'animaux testés.***

La prévalence obtenue ici est calculée à partir du nombre d'animaux positifs au(x) test(s). Par contre la prévalence apparente à l'échelle du troupeau est déterminée en remplaçant le nombre d'animaux par le nombre de troupeau. Ainsi, nous obtenons la formule suivante : ***Prévalence apparente troupeau = nombre de trps positifs/ nombre de trps testés***

***trps*** : troupeaux. Un troupeau est considéré positif si et seulement, il présente dans son effectif au moins un cas séropositif.

#### III.8.1.2 La prévalence réelle

La prévalence réelle a été calculée en utilisant la formule suivante (Thrusfield, 2007) :

$$\text{P réelle} = \frac{Papparente+Sp-1}{Se+Sp-1}$$

Avec :

*Se*, la sensibilité de chaque test (soit test de dépistage ou test de confirmation)

*Sp*, la spécificité de chaque test (soit test de dépistage ou test de confirmation)

*P*, la prévalence

Les valeurs fournies par le fabricant sont les suivantes (annexes 3 et 5):

- Epreuve à l'antigène tamponné : ***Sensibilité*** : 100% (CI 95% : 89,57% - 100%) ; ***Spécificité*** : 99,83% (CI 95% : 99,59% - 100%)
- ELISA indirect : ***Sensibilité*** : 100% (CI 95% : 89,57% - 100%) ; ***Spécificité*** : 99,74% (CI 95% : 99,24% - 99,91%)

#### II.8.1.3 Prévalence réelle par l'approche bayésienne

L'approche bayésienne a été utilisée pour estimer la prévalence réelle. Cette technique d'analyse statistique a consisté à combiner les résultats des tests sérologiques dans un modèle dit bayésien avec des informations d'experts (information *a priori*) sur la sensibilité et la spécificité des tests utilisés, pour obtenir une estimation de la prévalence réelle *a posteriori* (Annexe 6). Cette analyse a été faite à l'aide du logiciel WinBUGS® Version 1.4 (Praet *et al.*, 2006; Praud, 2012; Sanogo *et al.*, 2008; Sanogo *et al.*, 2013).

### II.8.2 Facteurs de risque

Les facteurs de risque identifiés dans le cadre de notre étude sont ceux qui concernent l'animal ; les facteurs intrinsèques et ceux liés à la gestion du troupeau, au mode d'élevage, à l'environnement et au niveau de connaissance de l'éleveur par rapport à la brucellose bovine ; facteurs extrinsèques.

La régression logistique réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 20.0, nous a permis d'identifier parmi les facteurs cités ci-haut, ceux pouvant être un facteur de risque de la brucellose bovine ($p < 0.05$).

Pour la réalisation de ces études, nous avons bénéficié de l'autorisation et de l'appui du Programme PAPA/ADFL et des autorités compétentes du Ministère de l'Elevage, des Pêches et des Industries animales (DREPIA Adamaoua et Nord).

# Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

## III.1 RESULTATS

Au total, 52 éleveurs ont été interviewés pour un total de 82 troupeaux sélectionnés et 1031 animaux choisis de façon aléatoire.

### III.1.1 Niveau de connaissance des certains acteurs de la filière bovine sur la brucellose bovine

A la suite du dépouillement et de l'analyse de différents questionnaires dûment remplis, nous avons obtenus les résultats suivants (tableau IV) :

- 57,7% d'éleveurs connaissent la brucellose bovine ;
- 61,5% d'éleveurs ne connaissent pas l'aspect zoonotique de cette pathologie ;
- 57,7% d'éleveurs préfèrent éliminer du (des) troupeau (x) les bovins brucelliques et des cas séropositifs ;
- 51,9% d'éleveurs ignorent le risque lié à l'exercice de leur profession ;
- 80,8% d'éleveurs disent n'ayant pas encore vécu ou connu une personne souffrant de la brucellose.

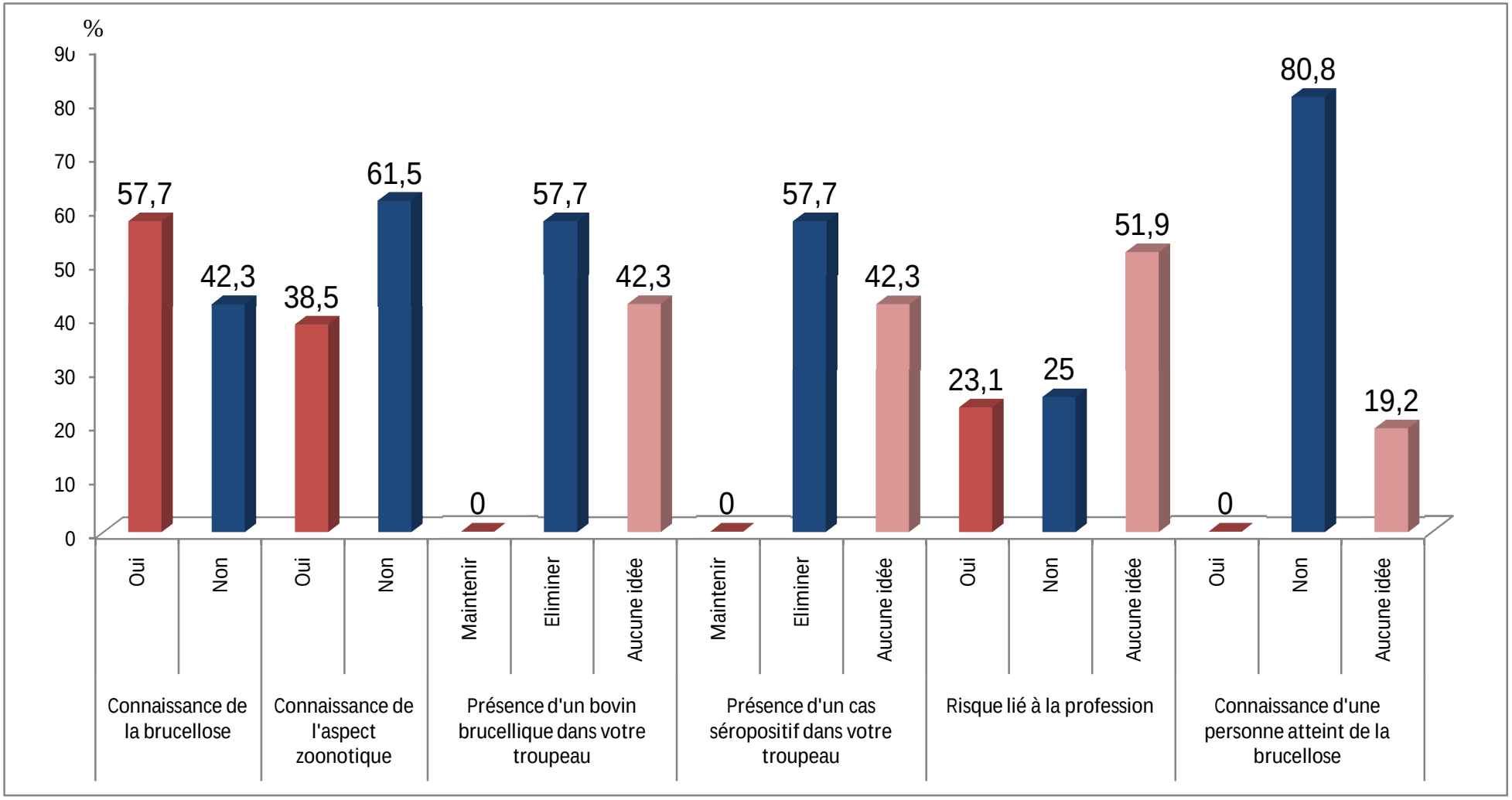



**Figure 3 :** Connaissances des éleveurs sur la brucellose bovine

### III.1.2 Prévalence

#### III.1.2.1 Prévalences apparente et réelle

Les tests à l'EAT et à l'ELISA indirect, que nous avons réalisés sur 1031 bovins, ont révélé des taux de prévalence apparente de la maladie respectifs de 10,5% et 8,8% sur l'ensemble de la zone d'étude. Les résultats par région sont présentés dans le tableau IV. Les résultats par département et par test sérologique sont présentés dans les figures 4 et 5. Sur un total de 82 troupeaux testés, nous avons obtenu une prévalence apparente de 46,3% et 26,8% respectivement à l'EAT et à l'ELISA indirect. Les détails par région sont présentés dans le tableau IV.

En utilisant les sensibilités et les spécificités des deux tests sérologiques données par le fabricant (annexes 3 et 5), nous avons obtenus les résultats mentionnés dans le tableau IV. A l'échelle individuelle, la prévalence réelle dans la zone d'étude est de 10,3% à l'EAT et 8,6% à l'ELISA indirect. A l'échelle du troupeau, elle est de 46,2% à l'EAT et 26,6% à l'ELISA indirect. Les détails par région figurent dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Prévalences apparente et réelle (%) de la brucellose bovine à l'échelle individuelle et du troupeau en fonction de la région et du test

| **Région** | | **Adamaoua** | **Nord** | **Total** |
|---|---|---|---|---|
| ***A l'échelle individuelle*** | | | | |
| **Nombre d'animaux testés** | | 522 | 509 | 1031 |
| **EAT** | **P. apparente** | 65 (12,4) | 43 (8,4) | 108 (10,5) |
| | **P. réelle** | 65 (12,2) | 43 (8,2) | 108 (10,3) |
| **ELISA indirect** | **P. apparente** | 60 (11,5) | 31 (6,1) | 91 (8,8) |
| | **P. réelle** | 60 (11,3) | 31 (6,1) | 91 (8,6) |
| ***A l'échelle du troupeau*** | | | | |
| **Nombre de troupeaux testés** | | 43 | 39 | 82 |
| **EAT** | **P. apparente** | 20 (46,5) | 18 (46,1) | 38 (46,3) |
| | **P. réelle** | 20 (46,4) | 18 (46,0) | 38 (46,2) |
| **ELISA indirect** | **P. apparente** | 15 (34,9) | 7 (17,9) | 22 (26,8) |
| | **P. réelle** | 15 (34,7) | 7 (17,7) | 22 (26,6) |

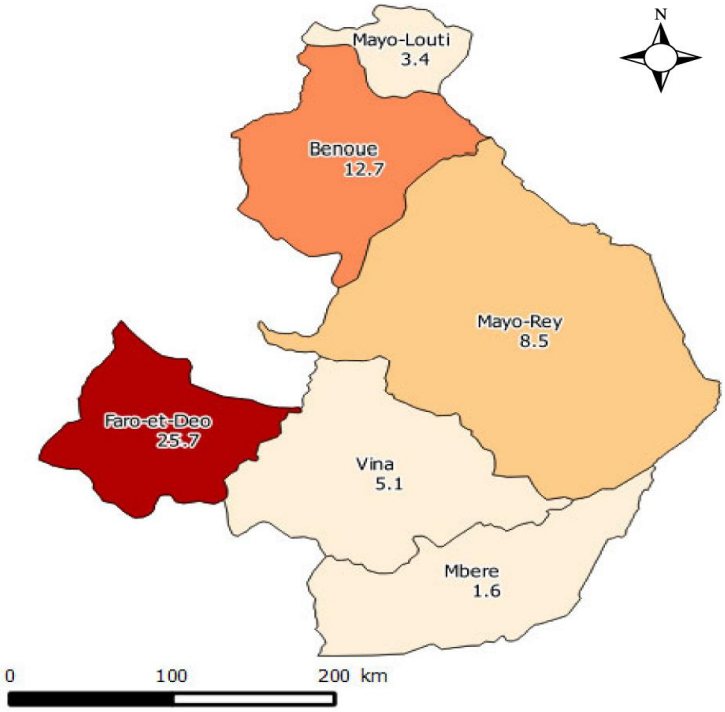



**Figure 4 :** Répartition de la prévalence apparente individuelle au niveau des sites de prélèvements en utilisant l'Epreuve à l'antigène tamponné (EAT)

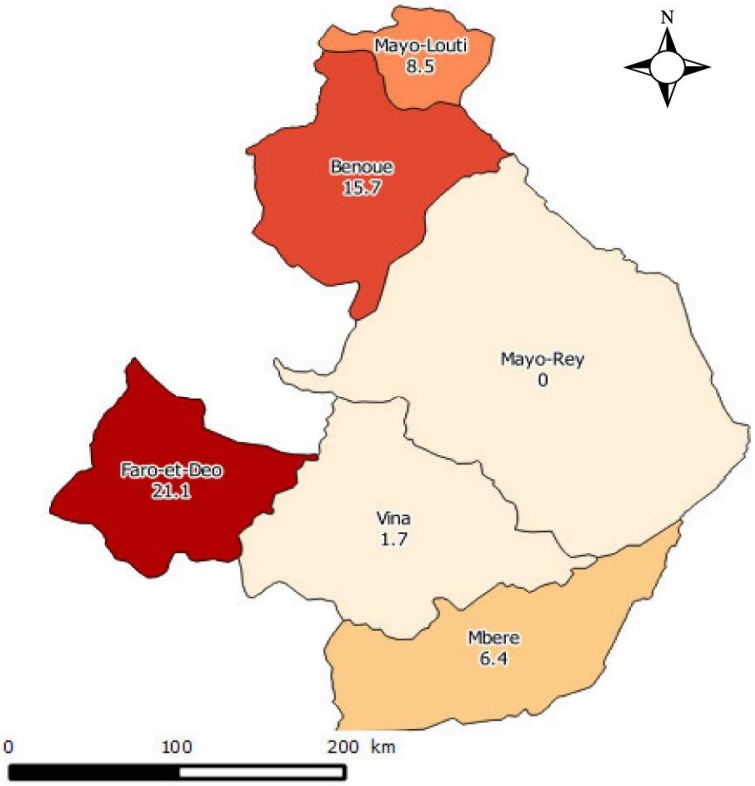



**Figure 5 :** Répartition de la prévalence apparente individuelle au niveau des sites de prélèvements en utilisant l'Elisa indirect

### III.1.2.2 Prévalence réelle par l'approche bayésienne

Les résultats des différents tests sérologiques individuels ont été regroupés en 10 modalités à savoir les résultats à l'EAT et/ou à l'ELISA indirect. Le tableau V illustre les différentes modalités possibles obtenues à partir du tableau de contingent des deux tests.

Il ressort de ce tableau que :

- 51 animaux sont positifs aux deux tests combinés EAT-ELISA indirect soit une prévalence de 5,0% ;
- 148 animaux sont positifs à l'un deux tests EAT ou ELISA indirect soit une prévalence de 14,4%.

**Tableau V :** Résultats combinés des différents tests sérologiques

| Résultat sérologique | Nombre de positifs (% [95% IC]) |
|---|---|
| EAT (+) | 108 (10,5% [8,6 ; 12,4]) |
| EAT (-) | 923 (89,5% [87,6 ; 91,4]) |
| ELISA indirect (+) | 91 (8,8% [7,1 ; 10,5]) |
| ELISA indirect (-) | 940 (91,2% [89,5 ; 92,9]) |
| EAT (+) ELISA indirect (+) | 51 (5,0% [3,7 ; 6,3]) |
| EAT (+) ELISA indirect (-) | 57 (5,5% [4,1 ; 6,9]) |
| EAT (-) ELISA indirect (+) | 40 (3,9% [2,7 ; 5,1]) |
| EAT (-) ELISA indirect (-) | 883 (85,6% [83,4 ; 87,7]) |
| EAT ou ELISA indirect (+) | 148 (14,4% [12,2 ; 16,5]) |
| EAT ou ELISA indirect (-) | 883 (85,6% [83,4 ; 87,7]) |

Apres avoir combiné les informations recueillies sur le terrain (Tableau V) et l'opinion de l'expert (Tableau VI) dans un modèle Bayésien (annexe 7), nous avons obtenu une prévalence réelle individuelle de 5,4% avec un intervalle de confiance à 95% de [0.4 ; 10.5]. Après 30000 itérations, nous avons obtenu des nouvelles caractéristiques pour les tests sérologiques utilisés répertoriées sur le tableau VII.

**Tableau VI :** Prévalences apparentes aux différents tests et l'opinion de l'expert par rapport à ces tests (sensibilité et spécificité)

| Test | Variable | Moyenne (%) | IC à 95 % |
|---|---|---|---|
| ELISA indirect | Prévalence | 8,8 | 7,1 ; 10,5 |
| | Sensibilité [a] | - | 92,5 ; 100,0 |
| | Spécificité [a] | - | 90,6 ; 100,0 |
| EAT | Prévalence | 10,5 | 8,6 ; 12,3 |
| | Sensibilité [a] | - | 21,0 ; 98,3 |
| | Spécificité [a] | - | 68,8 ; 100,0 |

[a]Source Nielsen, 2002

**Tableau VII :** Prévalence réelle estimée après avoir combiné des résultats des tests sérologiques à l'opinion de l'expert sur un modèle Bayésien à l'aide du logiciel WinBUGS à 30000 itérations (voir annexe 7 pour le modèle)

| Test | Variable | Moyenne (%) | IC à 95 % |
|---|---|---|---|
| | Prévalence | 5,4 | 0,4 ; 10,5 |
| ELISA indirect | Sensibilité | 89,6 | 80,4 ; 99,4 |
| | Spécificité | 95,7 | 91,1 ; 99,7 |
| EAT | Sensibilité | 58,3 | 26,4 ; 92,7 |
| | Spécificité | 92,1 | 88,7 ; 95,2 |

### III.1.3 Facteurs de risque de la brucellose bovine

Après avoir effectué l'analyse avec la régression logistique binaire, il ressort que la région, le département, la taille du troupeau, le sexe, la classe d'âge et la connaissance de l'éleveur par rapport à la brucellose constituent chacun un facteur de risque ($p<0,05$) (tableaux VIII à X). On constate que :

- La région de l'Adamaoua est plus affectée par la pathologie que la région du Nord (OR= 2,0 ; p= 0.003);
- Les départements du Faro et Déo (OR= 15,4 ; p< 0,0001), de la Bénoué (OR= 15,4 ; p= 0,002) et du Mayo Louti (OR= 5,4 ; p= 0,0032) sont plus affectés par la pathologie que le département de la Vina ;

- Les troupeaux de taille grande (OR= 0,5 ; p= 0,003) et petite taille (OR= 0,2 ; p= 0,024) sont moins affectés par la pathologie que le troupeau de taille moyenne ;
- Les animaux appartenant aux groupes d'éleveurs ne connaissant pas la brucellose bovine (Non : OR= 3,5 ; p= 0,003) sont plus affectés par la pathologie comparé aux animaux appartenant au groupe d'éleveurs connaissant la pathologie ;
- Les femelles sont plus affectées par la pathologie que les mâles (OR= 2,3 ; p= 0,028) ;
- Les classes des âgés (OR= 3,8 ; p< 0,0001) et des adultes (OR= 1,6 ; p= 0,087) sont plus affectées par la pathologie que la classe des jeunes.

**Tableau VIII :** Influence des facteurs extrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés à l'environnement, à la gestion et au mode d'élevage)

| Variable | Catégorie | Ensemble de données | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***Ni*** | ***ni*** | ***Séroprévalence (IC 95%)*** | ***OR (IC 95%)*** | ***p-value*** |
| **Région** | Nord | 509 | 31 | 6,1% [4,0 ; 8,2] | 1 | - |
| | Adamaoua | 522 | 60 | 11,5% [8,8 ; 14,2] | 2,0 [1,2 ; 3,1] | 0,003 |
| **Département** | Vina | 117 | 2 | 1,7% [0,0 ; 4,0] | 1 | - |
| | Mbéré | 187 | 12 | 6,4% [2,9 ; 9,9] | 3,9 [0,9 ; 17,9] | 0,076 |
| | Bénoué | 134 | 21 | 15,7% [9,5 ; 21,8] | 10,7 [2,4 ; 46,6] | 0,002 |
| | Faro et Déo | 218 | 46 | 21,1% [15,7 ; 26,5] | 15,4 [3,7 ; 64,6] | < 0,0001 |
| | Mayo Louti | 117 | 10 | 8,5% [3,4 ; 13,5] | 5,4 [1,1 ; 25,1] | 0,032 |
| | Mayo Rey | 258 | 0 | 0% | 0,0 | 0,995 |
| **Taille du troupeau** | Troupeau moyen (30-59 ax) | 279 | 38 | 13,6% [9,6 ; 17,6] | 1 | - |
| | Grand troupeau (≥60 ax) | 683 | 51 | 7,5% [5,5 ; 9,5] | 0,5 [0,3 ; 0,8] | 0,003 |
| | Petit troupeau (≤30 ax) | 69 | 2 | 2,9% [1,0 ; 6,8] | 0,2 [0,0 ; 0,8] | 0,024 |
| **Système de production** | Semi-intensif | 645 | 55 | 8,5% [6,3 ; 10,6] | 1 | - |
| | Extensif | 386 | 36 | 9,3% [6,4 ; 12,2] | 1,1 [0,7 ; 1,7] | 0,662 |
| **Contact avec les animaux sauvages** | Oui | 476 | 46 | 9,7% [7,0 ; 12,3] | 1 | - |
| | Non | 555 | 45 | 8,1% [5,8 ; 10,4] | 0,8 [0,5 ; 1,3] | 0,381 |

**Ni** : effectif total, **ni** : nombre de cas séropositifs, **ax** : animaux.

**Tableau IX :** Influence des facteurs extrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés au niveau de connaissance de l'éleveur sur la brucellose bovine)

| Variable | Catégorie | Ensemble de données | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***Ni*** | ***ni*** | ***Séroprévalence (IC 95%)*** | ***OR (IC 95%)*** | ***p-value*** |
| **Connaissance de la brucellose bovine** | Oui | 301 | 15 | 5,0% [2,5 ; 7,5] | 1 | - |
| | Non | 339 | 40 | 11,8% [8,4 ; 15,2] | 2,5 [1,4 ; 4,7] | 0,003 |
| **Risque lié à la profession** | Oui | 164 | 14 | 8,5% [4,2 ; 12,8] | 1 | - |
| | Aucune idée | 260 | 15 | 5,8% [2,9 ; 5,6] | 0,6 [0,3 ; 1,4] | 0,274 |
| | Non | 216 | 26 | 12,0% [7,7 ; 16,3] | 1,5 [0,7 ; 2,9] | 0,273 |
| **Avortement** | Oui | 310 | 20 | 6,5% [3,7 ; 9,2] | 1 | - |
| | Non | 330 | 35 | 10,6% [7,3 ; 13,9] | 1,7 [1,0 ; 3,0] | 0,063 |
| **Rétention placentaire** | Oui | 162 | 12 | 8,0% [3,8 ; 12,2] | 1 | - |
| | Non | 478 | 42 | 8,8% [6,3 ; 11,3] | 1,1 [0,6 ; 2,1] | 0,765 |
| **Mortinatalité** | Oui | 244 | 19 | 7,8% [4,4 ; 11,2] | 1 | - |
| | Non | 394 | 36 | 9,1% [6,3 ; 11,9] | 1,2 [0,7 ; 2,1] | 0,555 |

**Ni** : effectif total, **ni** : nombre de cas séropositifs

**Tableau X :** Influence des facteurs intrinsèques sur la séropositivité (facteurs liés à l'animal)

| Variable | Catégorie | Ensemble de données | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***Ni*** | ***ni*** | ***Séroprévalence (IC 95%)*** | ***OR (IC 95%)*** | ***p-value*** |
| **Race** | Pulfuli | 167 | 20 | 1,9% [0,0 ; 4,0] | 1 | - |
| | Croisées* | 67 | 8 | 0,8% [0,0 ; 2,9] | 1,0 [0,4 ; 2,4] | 0,994 |
| | Fulani | 82 | 5 | 0,5% [0,0 ; 2,0] | 0,4 [0,1 ; 1,2] | 0,114 |
| | Gudali+Brahman | 715 | 58 | 5,6% [3,9 ; 7,3] | 0,6 [0,4 ; 1,1] | 0,116 |
| **Sexe** | Mâle | 852 | 83 | 9,7% [7,7 ; 11,7] | 1 | - |
| | Femelle | 179 | 8 | 4,5% [1,5 ; 7,5] | 2,3 [1,1 ; 4,8] | 0,028 |
| **Age** | Jeunes (≤4 ans) | 116 | 8 | 6,9% [2,3 ; 11,5] | 1 | - |
| | Adultes (entre 5 et 8 ans) | 818 | 65 | 7,9% [6,0 ; 9,7] | 1,6 [0,9 ; 2,8] | 0,087 |
| | Agés (≥9 ans) | 97 | 18 | 18,6% [10,8 ; 26,3] | 3,8 [1,9 ; 7,6] | < 0.0001 |
| **NEC** | Très bon (≥4) | 111 | 8 | 7,2% [2,4 ; 12,0] | 1 | - |
| | Mauvais (≤2,9) | 33 | 1 | 3,0% [0,0 ; 8,8] | 1,3 [0,6 ; 2,8] | 0,481 |
| | Bon (entre 3 et 3,9) | 887 | 82 | 9,2% [7,3 ; 11,1] | 0,4 [0,0 ; 3,3] | 0,399 |

**Ni** : effectif total, **ni** : nombre de cas séropositifs et **NEC** : note d'état corporelle. * toute sorte de croisée entre les races locales et entre les races locales et les races exotiques.

## III.2 DISCUSSION

### III.2.1 Épidémiologie descriptive

Cette étude a montré que la brucellose bovine est vraiment endémique dans les deux grands bassins laitiers du Nord et de l'Adamaoua.

En prenant individuellement les différents tests, la prévalence de la brucellose dans la zone d'étude se situe dans l'intervalle [7,1 ; 12,3], avec des estimations de 10,5 et 8,8% respectivement pour les tests du Rose Bengale et de l'ELISA indirect. Cela confirme la présence de cette pathologie dans cette zone. Cependant, dans le cas de la brucellose, l'application isolée des tests sérologiques usuels tels que le RB et l'ELISA indirect ne donnent pas d'information suffisante sur le statut réel des animaux et rend difficile l'estimation de la prévalence. Par ailleurs, bien que la vaccination susceptible d'inférer avec ces tests ne soit pas pratiquée au Cameroun, d'autres organismes ayant des caractéristiques antigéniques proches, comme *Yersinia enterocolitica O:9*, *Xanthomonas maltophilia* et *Salmonella urbana*, sont capables de donner une sérologie faussement positive (Sanogo *et al.*, 2008).

En l'absence de gold test pour le diagnostic de la brucellose, nous avons opté pour une combinaison de tests sérologiques afin d'obtenir des estimations plus fiables, de réduire les erreurs de classification et d'améliorer la sensibilité et la spécificité du diagnostic. Une prévalence apparente individuelle de 5,0% (95% IC de [3,7 ; 6,7]) a été obtenue. Cette estimation est inférieure à celles fournies individuellement par les tests utilisés. La prévalence apparente estimée à l'échelle du troupeau est de 26,8% et 46,3% respectivement à l'ELISA indirect et au Rose Bengale. Scolamacchia *et al.* (2010) dans la région de l'Adamaoua, ont obtenu une séroprévalence de 3.0% à l'échelle individuelle et de 16% à l'échelle du troupeau en utilisant l'ELISA compétitive. Ojong (2011) quant à lui en prenant comme test sérologique le Rose Bengale, a estimé la séroprévalence de la brucellose bovine dans deux zones agro-écologiques (II : hautes savanes guinéennes et III : hauts plateaux de l'Ouest) à 4,6%. Bayemi *et al.* (2009), ont obtenu une prévalence de 8.4% au sein de la population des bovins Holstein dans le Nord-ouest Cameroun en utilisant le test de l'ELISA compétitive. Shey Njila *et al.* (2005) quant à eux à l'abattoir de Dschang dans la région de l'Ouest Cameroun, ont obtenu une prévalence apparente de 4,88% au test du Rose Bengale et de 9,64% au test de l'ELISA indirect. Il ressort de cette présentation que les résultats obtenus par les trois premiers auteurs sont nettement différents de ceux obtenus dans le cadre de notre étude. Par contre, nous constatons que nos résultats ne diffèrent pas de ceux obtenus par Shey Njila *et al.* (2005) pour le test ELISA indirect. En Afrique centrale, les travaux effectués par Delafosse *et al.* (2009) au Tchad ont donné une séroprévalence de 2,6%. Nakoune *et al.* (2004) ont estimé pour leur part que

la séroprévalence de la brucellose bovine en République Centrafricaine était de 3,3%. En Afrique de l'Est, la prévalence de la brucellose bovine est de 3,3% pour l'Ouganda (Magona *et al.,* 2009) et de 0 à 10% pour l'Ethiopie (Arimi *et al.,* 2005). Par contre en Afrique australe, cette prévalence est de 5,6% pour le Zimbabwe (Matope *et al.,* 2010) et de 18,7 % pour la Zambie (Chimana *et al.,* 2010). Enfin en Afrique de l'Ouest, cette prévalence est de 6,6% pour le Ghana (Kubafor *et al.,* 2000) et de 13,2% pour le Burkina Faso (Traoré *et al.,*2004). La prévalence estimée au niveau régional (en Afrique Sub-saharienne) en général et au niveau sous régional (Afrique Centrale) en particulier, présente une certaine différence avec quelques fois de similarité. Cette différence serait plus ou moins liée premièrement à la méthodologie utilisée dans le protocole de recherche à savoir le type et le nombre de test utilisé pour le diagnostic et le schéma adopté en série (c'est-à-dire on utilise en premier un test de dépistage et on confirme les cas positifs avec un autre test très spécifique) ou en parallèle (c'est-à-dire tous les données biologiques sont soumises aux différents tests indépendamment les uns des autres). Deuxièmement, cette différence pourrait être due à l'évolution de la maladie.

En se focalisant seulement sur cette remarque, il ressort que la prévalence apparente estimée à partir d'un ou des tests sérologiques et pris individuellement, n'exprime qu'une part de la réalité du statut sanitaire des animaux ou du troupeau. Néanmoins, en combinant deux ou plusieurs tests et en ne considérant que les animaux séropositifs à tous ces tests, nous obtenons une estimation de la prévalence apparente qui est plus ou moins proche de la prévalence réelle. Cependant, il convient de noter que la prévalence estimée réellement doit intégrer certaines notions qui soient liées ou non aux informations recueillies sur le terrain et sur les caractéristiques des tests utilisés.

La prévalence réelle à l'échelle individuelle dans la zone d'étude est de 10,3% à l'EAT et de 8,6% à l'ELISA indirect et à l'échelle du troupeau, de 46,2% à l'EAT et de 26,6% à l'ELISA indirect. Il faut noter que cette prévalence n'est pas différente de la prévalence apparente estimée. Cette estimation est nettement supérieure à celle obtenue par Boukary *et al.* en 2013 (1,3% à l'échelle individuelle et 13,7% à l'échelle du troupeau) pour les travaux réalisés au Niger en utilisant comme test l'ELISA indirect.

En utilisant l'approche bayésienne, nous avons obtenu une prévalence réelle estimée à 5,4% avec un intervalle de confiance à 95% de [0,4 ; 10,5]. Cette prévalence est inférieure à celle déterminée par Sanogo *et al.* en 2008 (8,8%) et en 2013 (10,3%) pour des études réalisées en Côte d'Ivoire.

Malgré l'adoption d'une même méthodologie de recherche (analyse des données statistiques, schéma de test en série ou en parallèle par exemple), nous avons remarqué que la prévalence varie d'une zone géographique à une autre.

### III.2.2 Facteurs de risques

Les facteurs de risque identifiés à la suite de la régression logistique binaire sont entre autre, la région, le département, la taille du troupeau, le sexe, l'âge et la connaissance de la brucellose bovine par l'éleveur.

Au niveau régional, l'Adamaoua a enregistré un taux de prévalence apparente estimé à 11,5% à l'ELISA indirect. Le Nord quant à lui, a enregistré des taux de 6,1% au même test sérologique. Cette différence pourrait être due au facteur climatique car l'Adamaoua qui présente un climat de type tropical humide, est favorable à la survie des germes de Brucelles tandis que la région du Nord situé plus au Nord, est soumis à un climat de type soudano-sahélien (climat tropical sec). Des études menées dans des zones similaires au Cameroun et en Afrique de l'Ouest, ont montré que la prévalence était plus élevée en zone guinéenne qu'en zone soudanaise ou soudano-sahélienne (Ojong, 2011; Sanogo *et al.*, 2012). Ce qui s'explique par l'influence du climat sur l'épidémiologie de la brucellose.

Les départements du Faro et Déo (21,1%), de la Bénoué (15,7%), du Mayo Louti (8,5%) et du Mbéré (6,4%) ont enregistré une prévalence plus élevée que le département de la Vina (1,7%). Cette différence pourrait être due aux activités pastorales (production, transhumance) rencontrées dans ces départements. Les départements qui ont enregistrés une prévalence élevée, sont des zones de production et de transhumance tandis que la Vina qui présente un taux de prévalence faible est simplement une zone de production. Le fait que les animaux transhumants et les animaux sédentaires se partagent le même environnement (point d'eau, pâturage, etc.), constituent un facteur de risque important car la prévalence dans cette zone se trouve ainsi modifier à cause de la contamination de cet environnement par le premier groupe si celui regorge des cas malades de la brucellose (Mbuk *et al.*, 2011).

Similairement, la séroprévalence semble avoir un lien avec la taille du troupeau car les taux sont élevés pour les groupes troupeau moyen (13,6%) et grand troupeau (7,5%) contrairement à celui du groupe petit troupeau (2,9%). Ces résultats corroborent avec les résultats de certains auteurs qui ont prouvés que le taux de prévalence augmentait avec la taille du troupeau (Boukary *et al.*, 2013; Makita *et al.*, 2011; Ojong, 2011; Sanogo *et al.*, 2013).

Pour mieux apprécier ou relever le facteur âge comme un facteur de risque, nous avons jugé bon de regrouper en classe : jeunes (≤ 4ans), adultes (entre 5 et 8 ans) et âgés (≥ 9 ans). La prévalence est plus élevée chez les âgés (18,6%) et les adultes (7,9%) que chez les jeunes (6,9%). La différence entre les différentes classes d'âge est significative. Ceci nous parait logique puisque ces deux classes d'âge ont plus de chance d'être en contact avec un animal infecté que la classe des jeunes. Plus il ya de vieux animaux, plus le taux d'infection de ceux-ci est élevé. Plusieurs études ont montré que les animaux en âge de se reproduire (3-4 ans) deviennent sensibles à l'infection brucellique et s'accroissent avec la parité et l'âge de l'animal (Bayemi *et al.*, 2009; Boukary *et al.*, 2013; Delafosse *et al.*, 2002; Kouamo *et al.*, 2010; Koutinhouin *et al.*, 2003; Mazeri *et al.*, 2013; Ojong, 2011; Onunkwo *et al.*, 2011; Sanogo *et al.*, 2012; Traore *et al.*, 2004). En quelque sorte, les vieux animaux seraient donc à l'origine du maintien de l'infection dans le troupeau.

La plupart des animaux prélevés sont constitués en majorité de femelles avec quelques mâles utilisés comme géniteurs ou reproducteurs. Nous avons remarqué que la prévalence est plus élevée chez les femelles (9,7%) que chez les mâles (4,5%). Cette différence s'expliquerait par la durée de vie économique plus élevée chez les femelles que chez les mâles. Traoré *et al.* (2004) ont pu déterminer que le sexe pouvait être considéré comme un facteur de risque et que les femelles étaient plus exposées que les mâles. Ce qui est contradictoire avec les analyses de Boukary *et al.* (2013) qui n'ont pas trouvé de différence significative entre les femelles et les mâles.

Par rapport à l'évaluation du niveau de connaissance de la brucellose, il convient de préciser que la prévalence est plus élevée chez les animaux appartenant au groupe d'éleveurs ayant répondu Non (11,2%) que chez les animaux appartenant au groupe d'éleveurs qui ont répondu Oui (5,0%). En quelque sorte, les groupes d'éleveurs ignorant la brucellose bovine, ont enregistré des taux de séroprévalence élevés contrairement à celui du groupe d'éleveurs ayant une certaine idée de la pathologie. L'absence de campagne, de sensibilisation ou de vulgarisation des éleveurs sur cette maladie, peut constituer un facteur de risque important de la brucellose bovine chez l'animal et chez l'homme (zoonose majeure).

Contrairement à certains auteurs (Kouamo *et al.*, 2010 ; Mazeri *et al.*, 2013 ; Ojong, 2011 ; Teshale *et al.*, 2006), nous n'avons pas trouvé de différence significative pour les facteurs tels que le système de production, le contact avec les animaux sauvages, l'historique d'avortement, l'historique de rétention placentaire, la race et la note d'état corporelle car leur $p > 0,05$.

# CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Cette étude nous a permis de confirmer la présence de la brucellose bovine dans les deux grands bassins laitiers du Nord et de l'Adamaoua-Cameroun. Les résultats obtenus montrent que la prévalence (apparente et réelle) connait une augmentation par rapport aux travaux antérieurs menés au Cameroun. La région, le département, la talle du troupeau, le sexe, la classe d'âge et la connaissance de la brucellose ont été identifiés comme facteurs de risque vis-à-vis de la brucellose bovine. Dans l'ambition de moderniser les élevages traditionnels afin d'accroitre la productivité actuelle, il est important que l'on mette en place des mesures de lutte contre la brucellose bovine dans nos élevages. La mise en place d'un programme de contrôle et de lutte contre la brucellose ne peut être envisagée que par une sensibilisation et une participation la plus large possible des éleveurs. Afin de prévenir les cas de contamination humaine, la sensibilisation accrue des populations sur le risque sanitaire lié à la consommation de lait et de produits laitiers crus doit être renforcé.

Pour le contrôle effectif de cette pathologie au Cameroun, une approche intégrée devrait être mise en place en prenant en compte les relations et les interactions qui existent entre l'homme, les animaux et l'environnement. C'est pour cette raison qu'un nouveau cadre de travail multisectoriel faisant intervenir tous les acteurs de la santé publique humaine et vétérinaire a été initié par certains organismes internationaux avec l'approche ''One Health'' (''Une Seule Santé'').

Comme recommandations, il serait important et intéressant :

- D'isoler et d'identifier les espèces et ou souches de Brucella circulant dans les grands bassins laitiers de l'Adamaoua et du Nord s'agissant la brucellose bovine ;
- D'étendre l'étude épidémio-clinique de la brucellose bovine aux autres grands bassins laitiers du pays ;
- D'établir une carte épidémio-clinique et étiologique de la brucellose bovine dans les grands bassins laitiers du Cameroun ;
- D'évaluer l'impact économique de la brucellose bovine sur l'économie nationale (contribution au produit intérieur brut) ;
- D'étendre l'étude épidémio-clinique de la brucellose animale à d'autres espèces animales comme les petits ruminants, les porcins et dans une certaine mesure à l'homme.

L'Etat doit pour sa part intervenir dans :

- La dotation un réseau d'épidémio-surveillance en moyens spécifiques pour la surveillance de la brucellose ;

- Le bon fonctionnement et le renforcement du réseau d'épidémio-surveillance des maladies animales mis en place dans le cadre du PACE-Cameroun ;
- L'application des mesures zoosanitaires nécessaires à travers le contrôle des mouvements d'animaux qui entrent dans le pays ou qui en sortent ;
- L'institution d'une surveillance sanitaire de la brucellose bovine chez toutes les espèces réceptives à travers la déclaration obligatoire des cas d'avortements et l'instauration d'une campagne de dépistage et de police sanitaire ;
- L'intégration du vaccin B19 dans le programme de campagne de vaccination annuelle surtout pour le cheptel laitier.

# REFERENCES


1- Adamou, H.H., 2008. Etude épidémiologique de la brucellose dans les élevages laitiers urbains et périurbains de Niamey, Niger, Cheick Anta Diop, Dakar.

2- Adehan, R., Koutinhouin, B., Baba-moussa, L.S., Aigbe, L., Agbadje, P.M., Youssao, I.A.K., 2005, Prévalence de la brucellose bovine dans les fermes d'Etat du Bénin de 2000 à 2003. RASPA3 3-4.

3- Akakpo, A.J., 1987, Brucelloses animales en Afrique tropicale. Particularités épidémiologique, clinique et bactériologique. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 40, 307-320.

4- Akakpo, A.J., Teko-Agbo, A., Kone, P. 2009. L'Impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique. In Conf. OIE, ed., pp. 71-84.

5- Akakpo, J.A., Ndour, A.P.N., 2013, La brucellose bovine en Afrique de l'ouest et du centre : état des lieux. RASPA11, 1-6.

6- Anonyme 2004. La brucellose (France, ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES), p. 47.

7- Anonyme 2009. Document de Stratégie de la Croissance et de l'Emploi-Programme d'Amélioration de la Productivité Agricole.

8- Anonyme 2011. Amélioration du Contrôle des maladies transfrontalières objet des échanges commerciaux, DSV, éd. (Yaoundé, MINEPIA/DSV/SDISSPV_AN18092011).

9- Anonyme 2012a. Etude de Référence des Indicateurs de Sensibilisation, de Communication et d'Engagement du Public a l'Egard de la Biodiversité au Cameroun, CHM Cameroun/ONG Enviro-Protect/Ministère de l'Environnement, d.l.P.d.l.N.e.d.D.D., ed., p. 68.

10- Anonyme 2012b. Législation et déontologie vétérinaire (Ngaoundéré, Ecole des Sciences et de Médecine Vétérinaire), p. 190.

11- Arimi, S.M., Koroti, E., Kang'ethe, E.K., A.O. Omore, MCDermott, J.J., 2005, Risk of infection with Brucellaabortus and Escherichia coli O157:H7 associated with marketing of unpasteurized milk in Kenya. Acta Tropica 96, 1-8.

12- Ashenafi, F., Teshale, S., Ejeta, G., Fikru, R., Laikemariam, Y., 2007, Distribution of brucellosis among small ruminants in the pastoral region of Afar, eastern Ethiopia. . Rev.sci.tech. Off. int. Epiz.26, 731-739.

13- Bayemi, P.H., Webb, E.C., Nsongka, M.V., Unger, H., Njakoi, H., 2009, Prevalence of Brucella abortus antibodies in serum of Holstein cattle in Cameroon. Trop. Anim. Health. Prod. 41, 141–144.

14- Benkirane, A., 2001, Surveillance épidémiologique et prophylaxie de la brucellose des ruminants : l'exemple de la région Afrique du Nord et Proche-Orient. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.20, 757-767.

15- Berhe, G., Belihu, K., Asfaw, Y., 2007, Seroepidemiological Investigation of Bovine Brucellosis in the Extensive Cattle Production System of Tigray Region of Ethiopia. Intern. J. Appl. Res. Vet. Med. 5.

16- Boukary, A.R., 2013. Epidémiologie de la brucellose et de la tuberculose animales dans les milieux urbain, périurbain et rural au Niger. Thèse de 3é cycle. Université de Liège-Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Liège.

17- Boukary, A.R., Saegerman, C., Abatih, E., Fretin, D., Bada, R.A., Deken, R.D., Harouna, H.A., Yenikoye, A., Thys, E., 2013, Seroprevalence and Potential Risk Factors for Brucella Spp. Infection in Traditional Cattle, Sheep and Goats Reared in Urban, Periurban and Rural Areas of Niger. PLoS ONE 8.

18- Chakroun, M., Bouzouaia, N., 2007, La brucellose : une zoonose toujours d'actualité brucellosis : atopical zoonosis. Rev. Tun. Infectiol.1, 1 – 10.

19- Chimana, H.M., Muma, J.B., Samui, K.L., Hangombe, B.M., Munyeme, M., Matope, G., Phiri, A.M., Godfroid, J., Skjerve, E., Tryland, M.A., 2010, comparative study of seroprevalence of brucellosis in commercial and small-scale mixed dairy-beef cattle enterprises of Lusaka province and Chibombo district, Zambia. Trop. Anim. Health Prod.42, 1541-1545.

20- Coulibaly, N.D., Yameogo, K.R., 2000, Prevalence and control of zoonotic diseases: collaboration between public health and veterinarians in Burkina Faso. Acta trop.76, 53-57.

21- Delafosse, Goutard, F., Thebaud, E., 2002, Epidémiologie de la tuberculose et de la brucellose des bovins en zone périurbaine d'Abéché, Tchad. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.55, 5-13.

22- Domenech, J., 1987, Importance des brucelloses animales en Afrique centrale. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.40, 321-324.

23- Domingo, A.M., 2000, Current status of some zoonoses in Togo. Acta Trop.76, 65-69.

24- Faye, B., Castel, V., Lesnoff, M., Rutabinda, D., Dhalwa, J., 2005, Tuberculosis and brucellosis prevalence survey on dairy cattle in Mbarara milk basin (Uganda). Prev. vet. Med.67, 267-281.

25- Fensterbank, R., 1977, Diagnostic allergique de la brucellose bovine 2. Utilisation du test dans les troupeaux infectés. Ann. Rech. Vét.8, 195-201.

26- Ibrahim, N., Belihu, K., Lobago, F., Bekena, M., 2010, Sero-prevalence of bovine brucellosis and risk factors in Jimma zone of Oromia Region, South-western Ethiopia Trop. Anim. Health Prod. 42, 35-40.

27- IVS, 2001, Brucellose. Guide pour l'investigation épidémiologique, 1-4.

28- John, K., Fitzpatrick, J., French, N., Kazwala, R., Kambarage, D., Mfinanga, G.S., McMillan, A., Cleaveland, S., 2010, Quantifying Risk Factors for Human Brucellosis in Rural Northern Tanzania.PLoS ONE5, e9968.

29- Kang'ethe, E.K., Ekuttan, C.E., Kimani, V.N., Kiragu, M.W., 2007, Investigations into the prevalence of bovine brucellosis and the risk factors that predispose humans to infection among urban dairy and non-dairy farming households in Dagoretti division, Nairobi,Kenya. E. Afr. Med. J.84, 96-99.

30- Kouamo, J., Habimana, S., Bada, R.A., Sawadogo, G.J., Ouedraogo, G.A., 2010, Séroprévalences de la brucellose, de la BVD et de l'IBR et impact sur la reproduction des femelles zébus Gobra et croisements inséminées en milieu traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal. Rev. Méd. Vét.161 314-321.

31- Koutinhouin, B., Youssao, A.K.I., Houehou, A.E., Agbadje, P.M., 2003, Prévalence de la brucellose bovine dans les élevages traditionnels encadrés par le Projet pour le Développement de l'Elevage (PDE) au Bénin. Rev. Méd. Vét.154, 271-276.

32- Kubafor, D.K., Awumbila, B., Akanmori, B.D., 2000, Seroprevalence of brucellosis in cattle and humans in the Akwapim-South district of Ghana: public health implications. Acta trop.76, 45-48.

33- Magona, J.W., Walubengo, J., Galiwango, T., Etoori, A., 2009, Seroprevalence and potential risk of bovine brucellosis in zerograzing and pastoral dairy systems in Uganda. . Trop. Anim. Health Prod.41, 1765-1771.

34- Makita, K., Fèvre, E.M., Waiswa, C., Eisler, M.C., Thrusfield, M., Welburn, S.C., 2011, Herd prevalence of bovine brucellosis and analysis of risk factors in cattle in urban and peri-urban areas of the Kampala economic zone, Uganda. BMC Vet. Res.

35- Mangen, M.-J., Otte, J., Pfeiffer, D., Chilonda, P. 2002. Bovine brucellosis in Sub-Saharan Africa: Estimation of sero-prevalence and impact on meat and milk offtake potential. In AGAL Branch, F.-L.I.a.P., ed., p. 58.

36- Matope, G., Bhebhe, E., Muma, J.B., Lund, A., Skjerve, E., 2010, Herd-level factors for Brucella seropositivity in cattle reared in smallholder dairy farms of Zimbabwe. Preventive Veterinary Medecine 94, 213-221.

37- Mazeri, S., Scolamacchia, F., Handel, I.G., Morgan, K.L., Tanya, V.N., Bronsvoort, B.M.D.C., 2013, Risk factor analysis for antibodies to Brucella, Leptospira and C. burnetii among cattle in the Adamawa Region of Cameroon: a cross-sectional study. Trop. Anim. Health Prod. 45, 617–623.

38- Mbuk, E.U., Ajogi, I., Bale, J.O.O., Umoh, J.U., 2011, Prevalence of Brucella Antibodies in Migratory Fulani Cattle Herds in Kaduna State, Nigeria. NigerianVeterinary Journal 32, 26 - 29.

39- MINEPIA 2012. Rapport d'activités 2012, Division des Etudes, d.l.P., de la Coopération et des Statistiques, éd., pp. 1-137.

40- Muma, J.B., Godfroid, J., Samui, K.L., Skjerve, E., 2007, The role of Brucella infection in abortions among traditional cattle reared in proximity to wildlife on the Kafue flats of Zambia. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.26, 721-730.

41- Musa, M.T., Shigidi, M.T.A., 2001, Brucellosis in Camels in Intensive Animal Breeding Areas of Sudan. Implications in Abortion and Early-Life Infections. Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.54, 11-15.

42- Nakoune, E., Debaere, O., Koumanda-Kotogne, B., Selekon, B., Samory, F., Talarmin, A., 2004, Serological surveillance of brucellosis and Q fever in cattle in the Central African Republic. Act. Trop. 92, 147-151.

43- Nielsen, K., Yu, W., 2010, Serological diagnosis of brucellosis. Contributions, Sec. Biol. Med. Sci., MASAXXXI, p. 65–89.

44- OIE, 2009. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE : Brucellose bovine. In: Assemblée Mondiale des Délégués de l'OIE, Paris.

45- Ojong, B.W. 2011. Situation of brucellosis in beef-type cattle raised under different husbandry systems in Cameroon In Edulink Live Project of the European Union, ed. (Cameroon).

46- Onunkwo, J.I., Njoga, E.O., Nwanta, J.A., Shoyinka, S.V.O., Onyenwe, I.W., Eze, J.I., 2011, Serological Survey of Porcine Brucella Infection in South East, Nigeria. Nigerian Veterinary Journal 32, 60 - 62.

47- Praet, N., Dorny, P., Saegerman, C., Marcotty, T., Berkvens, D., 2006, Estimation de la prévalence d'une maladie et des caractéristiques des tests diagnostiques par une approche bayésienne. Epidémiol. et Santé Anim. 49, 113-130.

48- Praud, A., 2012. Apport de l'épidémiologie dans le choix des outils d'aide à la prise de décision sanitaire en santé animale : Evaluation des tests de dépistage en santé animale. Université Paris Sud XI, Paris Sud XI.

49- Rahman, A.K.M.A., Saegerman, C., Berkvens, D., Fretin, D., Gani, M.O., Ershaduzzaman, M., Ahmed, M.U., Abatih, E., 2013, Bayesian estimation of true prevalence, sensitivity and specificity of indirect ELISA, Rose Bengal Test and Slow Agglutination Test for the diagnosis of brucellosis in sheep and goats in Bangladesh. Preventive Veterinary Medicine 110, 242–252.

50- Sanogo, M., Abatih, E., Thys, E., Fretin, D., Berkvens, D., Saegerman, C., 2012, Risk factors associated with brucellosis seropositivity among cattle in the central savannah-forest area of Ivory Coast. Preventive Veterinary Medicine 107, 51– 56.

51- Sanogo, M., Cisse, B., Ouattara, M., Walravens, K., Praet, N., Berkvens, D., Thys, E., 2008, Prévalence réelle de la brucellose bovine dans le centre de la Côte d'Ivoire. Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop. 61, 147-151.

52- Sanogo, M., Thys, E., Achi, Y.L., Fretin, D., Michel, P., Abatih, E., Berkvens, D., Saegerman, C., 2013, Bayesian estimation of the true prevalence, sensitivity and specificity of the Rose Bengal and indirect ELISA tests in the diagnosis of bovine brucellosis. Vet. J. 195(1), 114-120.

53- Scolamacchia, F., Handel, I.G., Fèvre, E.M., Morgan, K.L., Tanya, V.N., Bronsvoort, B.M.D.C., 2010, Serological Patterns of Brucellosis, Leptospirosis and Q Fever in Bos indicus Cattle in Cameroon. PLoS ONE5, e8623.

54- Seleem, M.N., Boyle, S.M., Sriranganathan, N., 2010, Brucellosis: A re-emerging zoonosis. Vet. Microb. 140, 392–398.

55- Shey-Njla, O., Daouda, NYA, E., Zoli, P.A., Walravens, K., Godfroid, J., Geerts, S., 2005, Serological Survey of Bovine Brucellosis in Cameroon. Rev. Élev. Méd. Vét. Pays trop.58, 139-143.

56- Sibille, C.M.A., 2006. Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangaï (Mongolie). Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse.

57- Sikder, S., Rahman, A.A., Faruque, M.R., Alim, M.A., Das, S., Gupta, A.D., Das, B.C., Uddin, M.I., Prodhan, M.A.M., 2012, Bovine Brucellosis: An Epidemiological Study at Chittagong, Bangladesh. Pak. Vet. J. 32, 499-502.

58- Teshale, S., Muhie, Y., Dagne, A., Kidanemariam, A., 2006, Seroprevalence of small ruminant brucellosis in selected districts of Afar and Somali pastoral areas of Eastern Ethiopia : the impact of husbandry practice. Revue Méd. Vét. 11, 557-563.

59- Thrusfield, M., 2007, Veterinary Epidemiology, Third Edition. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 610 p.

60- Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Bénet, J.J., Shaw, A., Moutou, F., Lauza, A. 2001. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures, 2, ed. (Maisons-Alfort), p. 696.

61- Traore, A., Hamidou, H.T., Bale, B., David, W.R., Nongasida, Y., Moumouni, S., 2004, Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intraurbain à Hamdallaye (Ouagadougou). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 8, 3–8.

62- Weinhaupl, I., Schopf, K.C., Khaschabi, D., Kapaga, A.M., Msami, H.M., 2000, Investigations on the prevalence of bovine tuberculosis and brucellosis in dairy cattle in Dar es Salaam region and in zebu cattle in Lugoba area, Tanzania. Trop. Anim. HealthProd.32, 147–154.

# ANNEXES

1- Questionnaire
2- Fiche d'identification de l'animal prélevé
3- Protocole d'utilisation et Caractéristiques (sensibilité et spécificité) du réactif Rose Bengale
4- Protocole d'utilisation du kit d'ELISA indirect
5- Caractéristiques (sensibilité et spécificité) du kit d'ELISA indirect
6- Modèle Bayésien et résultat

**Annexe 1:** Questionnaire

Chers répondants

Merci d'accepter de répondre à notre questionnaire. Les questions ci-dessous sont purement à but académique et de recherche, conçues pour le contrôle des maladies qui affectent l'animal et l'homme au Cameroun. Les informations à rechercher sont relatives à votre mode de vie et à vos interactions avec les animaux. Vos réponses seront traitées dans la stricte confidentialité. Nous apprécierons votre coopération et votre honnêteté, ainsi que franchise.

Consentement de l'éleveur : ☐ Oui ☐ Non No de réf/_____/_____2014

Nom :_____ Date : _____

A) **INFORMATIONS SUR LE PARTICIPANT**

1) Sexe: _____ Age : _____ Localité : _____
2) Niveau d'éducation:☐Analphabète ☐Primaire ☐ Secondaire ☐ Supérieur ☐ Autre_____
3) Situation matrimoniale ☐ Célibataire ☐ Marier (Monogamie) ☐ Marier (Polygamie) (No:___)
4) Nombre d'enfants et de personnes vivants chez vous? _____
5) Religion: ☐ Musulman ☐ Chrétien ☐ Autres (spécifier) _____
6) Profession: _____ et ancienneté dans la prof: _____
7) Combien de vos enfants et membres vous assistent dans votre élevage avec vous? _____

B) **INTERACTIONS AVEC LES ANIMAUX**

8) Avec quels animaux êtes-vous en contact régulièrement? ☐ Bovins ☐ Moutons ☐ Chèvres ☐ Chevaux ☐ Porcs ☐ Volailles ☐Autres _____
9) Quelle est la nature du contact que vous avez avec ces animaux? _____
10) Quel système d'élevage pratiquez-vous ? _____
11) Quelles sont les maladies récurrentes des bovins que vous connaissez ?

| **Maladie** | **Dialecte local** | **Observations** |
|---|---|---|
| Peste bovine | Mbodeou | |
| Fièvre aphteuse | Mboorou | |
| Charbon symptomatique | Buttu ou Filto | |
| Anthrax | Bil-léou Filtobondo | |
| Cowdriose | Teltu | |
| Trypanosomoses | Pialwadawndé | |
| Babésioses bovines | SommoréouTchillé I-am | |
| PPCB | Bumsude | |
| Pasteurellose bovine | Kikawu | |
| Tuberculose bovine | Sondaarou | |
| Maladie nodulaire | Pia-bollé ou Bollo ou Bolla | |
| Dermatophylose | Foufré | |
| Brucellose bovine | Bakkalénayi | |
| Distomatose | Pialheng-ré | |
| Ectoparasites | Lellelli ou Kooti ou Tendi | ☐Tiques☐Puces ☐Autres : _____ |
| Parasites gastro-intestinaux | Guildi ou Sawora | ☐Coccidiose☐Vers ☐Autres_____ |

Autres :_____

12) Que faites-vous quand votre (vos) animal (aux) est (sont) malade(s) ? ☐Vendre ☐Manger☐Autres : _____

S'il y a de cas de mort, que faites-vous des cadavres ? ☐ Enterrer ☐ Manger ☐ Autres : _____

13) A quand remonte la dernière introduction de bovins dans votre troupeau ?_____ Combien ?_____ Pourquoi ?_____
14) A quel âge remplacez-vous vos taureaux ?_____ et vos femelles ?_____

15) Pourquoi remplacez-vous ces bovins ?_____
16) Combien de mâles_____ et de femelles_____ utilisez-vous pour la reproduction ?
17) Quel est l'âge à la première mise bas ? du taureau _____ et de la femelle_____

18) Consommez-vous le lait frais? ☐ Oui ☐ Non Si oui, depuis quand _____ et comment consommez-vous le lait frais? ☐Frais/cru ☐Bouilli ☐Frais et bouilli Autres_____

C) **CONNAISSANCE DE LA BRUCELLOSE, DE LA TUBERCULOSE ET DES AUTRES ZOONOSES**

19) Connaissez-vous des maladies animales qui peuvent affecter l'homme ? ☐Oui ☐Non. Si oui, lesquelles ?_____
_____
_____
_____

Comment les reconnaissez-vous ?_____
_____

Comment sont-elles transmises à l'homme ?_____
_____

Comment sont-elles transmises aux autres animaux ?_____
_____

20) Connaissez-vous la brucellose bovine ? ☐Oui ☐Non. Si oui, qu'est-ce que la brucellose bovine ?_____
_____
Qu'est-ce qui vous permet de dire que c'est la brucellose bovine ?_____
_____

21) La brucellose bovine peut-elle affecter les animaux et l'homme ? ☐Oui ☐Non. Si oui, comment le saviez-vous ?_____Comment la reconnaissez-vous chez les bovins ?_____ Comment se transmet-elle du bovin à l'homme ?_____ Comment se transmet-elle du bovin aux autres animaux ?_____
22) Avez-vous déjà vu un bovin brucellique ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée. Si oui, quand ?_____ et comment ? ☐Dans votre troupeau ☐ Troupeau (x) du voisinage ☐Autres : _____
23) Avez-vous eu à faire un test sérologique ?☐Oui ☐Non Si oui, quand ?_____ Par qui ?_____ Avec quel test ?_____ Si non pourquoi ?_____
24) Pouvez-vous permettre qu'on fasse tester votre animal avant son emploi comme reproducteur ? ☐Oui ☐Non ☐Si obligatoire
25) Un bovin dépisté positif de la brucellose, que doit-on faire? ☐l'utiliser comme reproducteur ☐l'écarter de la reproduction Préciser les raisons : _____
26) Pour les cas séropositifs, quelles sont les mesures à prendre ?☐les maintenir dans le troupeau ☐les éliminer du troupeau. Préciser les raisons : _____
27) Par rapport à votre métier, pensez-vous que vous pouvez attraper la brucellose bovine ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée. Si oui, pourquoi ?_____
Quelles sont les précautions à prendre pour prévenir cette affection ?_____
28) Existe-t-il dans votre troupeau, des animaux souffrant de la brucellose ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée
29) Dans le (les) troupeau (x) du voisinage, y a-t-il des cas de brucellose ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée
30) Y a-t-il contact entre ces animaux les vôtres ? ☐Oui ☐Non. Comment ?_____
31) Connaissez-vous une personne qui souffre de la brucellose ? ☐Oui ☐Non. Si oui, quelle est votre relation avec cette personne ?_____
32) Connaissez-vous la tuberculose bovine ? ☐Oui ☐Non. Si oui, qu'est-ce que la tuberculose bovine ?_____

_____

Qu'est-ce qui vous permet de dire que c'est la tuberculose bovine ?_____

_____

33) La tuberculose bovine peut-elle affecter les animaux et l'homme ? ☐Oui ☐Non. Si oui, comment le saviez-vous ?_____
Comment la reconnaissez-vous chez les bovins ?_____
Comment se transmet-elle du bovin à l'homme ?_____
Comment se transmet-elle du bovin aux autres animaux ?_____

34) Avez-vous eu à faire un test ? ☐Oui ☐Non Si oui, quand ?_____ Par qui ?_____ Avec quel test ?_____ Si non pourquoi ?_____

35) Pour un bovin dépisté positif de la tuberculose, quelles sont les mesures à prendre ? ☐les maintenir dans le troupeau ☐les éliminer du troupeau. Préciser les raisons : _____

36) Par rapport à votre métier, pensez-vous que vous pouvez attraper la tuberculose bovine ? ☐Oui ☐ Non ☐Aucune idée. Si oui, pourquoi ?_____ Quelles sont les précautions à prendre pour prévenir cette affection ?_____

37) Existe-t-il dans votre troupeau, des animaux souffrant de la tuberculose ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée

38) Dans le (les) troupeau (x) du voisinage, y a-t-il des cas de tuberculose ? ☐Oui ☐Non ☐Aucune idée

39) Y a-t-il contact entre ces animaux les vôtres ? ☐Oui ☐Non. Comment ?_____

40) Connaissez-vous une personne qui souffre de la tuberculose ? ☐Oui ☐Non. Si oui, quelle est votre relation avec cette personne ?_____

41) Au cours de cette année, y a –t-il eu des cas d'avortement dans votre troupeau? ☐Oui ☐Non. Si oui, à quel stade ?_____ Quel est le nombre de femelles ayant avortées dans ce troupeau ?_____

42) Au cours de cette année, y a-t-il eu des cas d'avortement dans le (les) troupeau (x) du voisinage? ☐ Oui ☐Non. Si oui, à quel stade ?_____

43) Quelle est la distance qui sépare votre troupeau du (des) leur(s) ?_____

44) Existe-t-il de naissances des veaux prématurés dans votre troupeau ? ☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

45) Existe-t-il de naissances des veaux chétifs dans votre troupeau ?☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

46) Existe-t-il des cas de mort-nés ? ☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

47) Existe-t-il de naissances des veaux prématurés dans le (les) troupeau (x) du voisinage? ☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

48) Existe-t-il de naissances des veaux chétifs dans le (les) troupeau (x) du voisinage ? ☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

49) Existe-t-il des cas de mort-nés dans le (les) troupeau (x) du voisinage? ☐Oui ☐Non Si oui, à quelle fréquence ?_____

50) Autres remarques : _____

_____

_____

***Merci de consacrer votre précieux temps pour répondre à nos questions.***

**Annexe 2:** Fiche d’identification de l’animal prélevé

## *Fiche d'identification de l'animal prélevé*

**Consentement de l'éleveur :** ☐Oui ☐Non

**Fiche N⁰ :**

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

**Date :**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

**Sous-groupe :** _____

**Race :** _____

**Age :** _____

**Sexe :**

| Mâle | Femelle |
|---|---|
| | |

**Robe :** _____

**Note d'état corporel ou état général :**

| Normal (1) | Maigreur (2) | Cachexie (3) | Obésité (4) | Surpoids (5) |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

**Origine :** _____

**Numéro d'identification :** _____

**Particularités :** _____

_____

**Logement :** _____

**Environnement :** _____

**Passé sanitaire et thérapeutique :** _____

_____

**Annexe 3:** Protocole d’utilisation et Caractéristiques (sensibilité et spécificité) du réactif Rose Bengale

Rapport de validation

# Rose Bengal Antigen for RSA test

Antigène pour Agglutination Rapide sur Lame, pour la détection d'anticorps anti-*Brucella abortus*, *melitensis*, ou *suis* chez les bovins, ovins, caprins et porcins

- **Suspension de *Brucella abortus* biovar 1 (souche Weybridge 99), inactivée à la chaleur et au phénol, colorée au Rose Bengale et diluée en tampon acide.**
- **Calibré sur le sérum standard international *Brucella* de l'OIEISS et le sous-étalon national pour être positif au 1:45 et négatif au 1:55, conformément à la directive Européenne CEE 64/432 et aux spécifications de l'OIE.**
- **Agréé ANSES**

## Introduction

La brucellose est une maladie causée par une bactérie à Gram-négatif, *Brucella*. Il s'agit d'un coccobacille immobile, non encapsulé, se comportant comme un parasite intracellulaire facultatif. Il existe différents types de *Brucella* dont la spécificité varie légèrement selon les espèces: *B. melitensis* (vaches, chèvres et moutons), *B. abortus* (bovins et bisons), *B. suis* (porcs), et *B. ovis* (ovins).

La brucellose bovine provoque l'avortement ou le vêlage prématuré chez les animaux infectés entre le cinquième et le huitième mois de gestation. Les vaches contaminées souffrent fréquemment de rétention placentaire, de troubles de la reproduction et peuvent devenir stériles. Le lait provenant d'une vache infectée peut également être porteur de la bactérie. Le lait contaminé constitue un risque pour la santé publique, cette bactérie étant à l'origine de la maladie de la fièvre ondulante chez l'homme.

Le dépistage sérologique est utilisé dans le cadre des programmes d'éradication de la maladie.

L'épreuve de l'antigène tamponné au **Rose Bengale** est une technique rapide pour la détection des anticorps anti-*Brucella abortus*, *melitensis* ou *suis* chez les sérums de bovins, ovins, caprins et porcins.

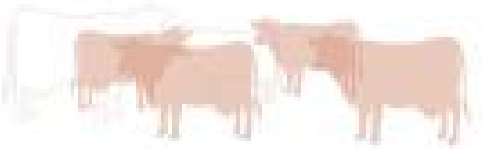
C'est une méthode facile à mettre en œuvre et pouvant être appliquée à un grand nombre de sérums.

## Principe du test

1) 25 à 30µl de sérum à tester et un volume équivalent de Rose Bengale sont mélangés rapidement sur une lame pour produire une zone d'un diamètre de 15 mm environ.
2) Après 4 min sous agitation lente, la présence d'anticorps spécifiques est révélée par la formation d'agglutinats visibles à l'œil nu. En l'absence d'anticorps spécifiques, le mélange garde un aspect homogène.

## Conservation

- Conserver entre 2°C et 8°C jusqu'à la date de péremption.
- Ne pas congeler.



## Sensibilité Analytique

La sensibilité analytique est évaluée par le test des dilutions du sous-étalon français (BRU POS SE 1) du standard international OIE/SS, selon l'annexe C de la directive Européenne 64/432 et les spécifications OIE.

Il doit présenter une agglutination lorsqu'il est dilué au 1:45 et ne pas présenter d'agglutination au 1:55.

## Spécificité

La spécificité est vérifiée par l'analyse de 1200 sérums issus de cheptels indemnes provenant de Bretagne, d'Aveyron et de l'Hérault.

Compte tenu de l'existence de réactions croisées entre *Yersinia enterolitica* et *Brucella abortus*, des réactions positives peuvent être observées, y compris dans les sérums issus de cheptels indemnes.

La spécificité du Rose Bengale d'IDvet sera considérée comme acceptable si elle conduit à observer une prévalence de réaction atypique du même ordre que celle observée avec un Rose Bengale agréé et largement utilisé en routine.

**Résultats:**

- Sur les 1200 sérums testés, 10 sérums ont présenté des agglutinations non spécifiques.
- Les mêmes 1200 sérums testés avec un Rose Bengale d'une autre marque avaient présenté 12 agglutinations non spécifiques.
- Parmi ces sérums, 8 présentaient ce phénomène sur les deux Rose Bengale.
- La spécificité du Rose Bengale d'IDvet peut être considérée comme équivalente aux Rose Bengale déjà enregistrés et largement utilisés.

## Sensibilité

La sensibilité est vérifiée par l'analyse de 20 sérums issus d'animaux infectés.

- 8 sérums du panel CERTIBIO n°SR3 et SR6-12.
- 12 sérums originaires de zones endémiques (Italie du Sud) ayant présenté des résultats positifs avec des Rose Bengale d'autres marques et issus d'animaux sur lesquels *Brucella abortus* a été isolée.

**Résultats:**

- Les 20 sérums issus d'animaux infectés ont donné des résultats positifs.

## Répétabilité

La répétabilité a été évaluée par l'analyse d'un sérum faiblement positif, à plusieurs reprises, par différents opérateurs et dans des cycles de manipulations réalisés sur plusieurs jours.

**Résultats:**

- Le sérum faiblement positif utilisé comme témoin interne dans les différents cycles a été systématiquement identifié comme positif.

## Robustesse

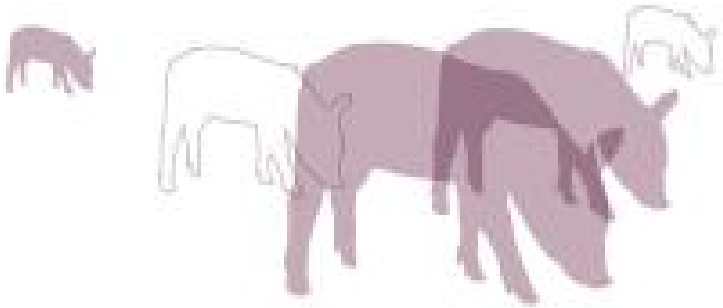
La robustesse du test est appréciée par la mise en œuvre du test dans différents laboratoires et par différents opérateurs (LVD 34, LVD 30).

**Résultats:**

- Le sérum faiblement positif utilisé comme témoin interne dans les différents cycles a été systématiquement identifié comme positif.

## Conclusion

Le **Rose Bengal Antigen for RSA test** est une technique sûre et rapide pour la détection des anticorps anti-Brucella abortus, melitensis ou suis sur des sérums bovins, ovins et porcins.



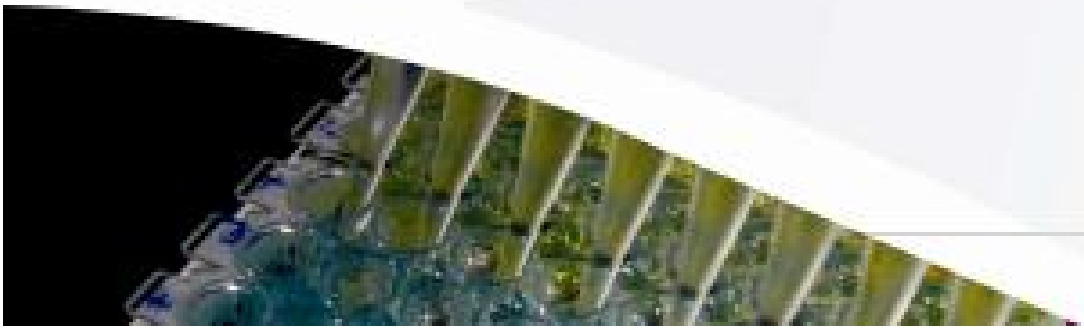
IDvet

IDvet
Innovative Diagnostics

310, rue Louis Pasteur
34790 Grabels – FRANCE

Phone + 33 (0) 4 67 41 49 33
Fax + 33 (0) 4 67 45 36 95

info@id-vet.com
www.id-vet.com



**Annexe 4:** Protocole d’utilisation du kit d’ELISA indirect

## Validation

Le test est validé si :

✓ la valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs ($DO_{CP}$) est supérieure à 0.350.

$$DO_{CP} > 0.350$$

✓ le rapport entre la moyenne des Contrôles Positifs ($DO_{CP}$) et la moyenne des Contrôles Négatifs ($DO_{CN}$) est supérieur à 3.

$$DO_{CP} / DO_{CN} > 3$$

## Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage S/P (S/P%):

$$S/P\ \% = \frac{DO_{échantillon} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

**1. Pour sérum ou plasma individuels, incubation courte ou de nuit:**

Les échantillons présentant un S/P%:

- inférieur ou égal à 110 % sont considérés comme négatifs.
- supérieur à 110% et inférieur à 120% sont considérés comme douteux.
- supérieur ou égal à 120% sont considérés comme positifs.

| Résultat | Statut |
|---|---|
| S/P % ≤ 110% | NEGATIF |
| 110% < S/P % < 120% | DOUTEUX |
| S/P % ≥ 120% | POSITIF |

**2. Pour les mélanges bovins, incubation courte:**

Les échantillons présentant un S/P%:

- inférieur ou égal à 20 % sont considérés comme négatifs.
- supérieur à 20% sont considérés comme positifs.

| Résultat | Statut |
|---|---|
| S/P % ≤20% | NEGATIF |
| S/P % > 20% | POSITIF |



ID.vet
Innovative Diagnostics

Système de management certifié

# ID Screen®
# Brucellosis Serum Indirect Multi-Species

ELISA Indirect pour la détection des anticorps anti-*Brucella abortus, melitensis et suis* dans le sérum et le plasma (échantillons individuels ou mélanges 10)

Incubation courte et de nuit

For *in vitro* use

BRUS-MS ver 0612 FR

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.id-vet.com - E-mail: info@id-vet.com

## Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre *Brucella abortus* (bovins), *melitensis* (ovins et caprins), et *suis* (porcs).

Il peut être utilisé sur sérums et plasmas individuels bovins, ovins, caprins et porcins ou sur mélanges bovins jusqu'à 10 sérums.

## Description et principe

Les cupules sont sensibilisées avec du LPS de *Brucella abortus*.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules, dilués au 1/20. Les anticorps anti-*Brucella*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué multi-espèce marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps anti-*Brucella*, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une Solution de Révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage

- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

## Composants du kit

| **Réactifs** |
|---|
| Microplaques sensibilisées avec du LPS de Brucella (12×8) |
| Conjugué concentré (10X) |
| Contrôle Positif |
| Contrôle Négatif |
| Tampon de dilution 2 |
| Tampon de dilution 3 |
| Solution de lavage concentrée (20X) |
| Solution de révélation (TMB) |
| Solution d'arrêt ($H_2SO_4$ 0,5 M) |

**La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit*

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (± 3°C).

2. Les autres réactifs (dont les plaques) peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.

3. Les composants portant la même dénomination (*solution de lavage, Tampons de dilution*) peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

**Remarque** : Si nécessaire, IDvet tient à votre disposition des volumes supplémentaires de réactifs.

## Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi -canaux capables de délivrer des volumes de 10 µl, 100 µl, 200 µl.
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Lecteur de microplaques à 96 puits
4. Eau distillée ou désionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.
6. Plaque de pré-dilution format 96 puits.



## Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La solution de révélation peut être irritante pour la peau.
3. Solution d'arrêt ($H_2SO_4$ 0,5M) peut provoquer de graves brûlures (**R35**). En cas de contact avec la peau ou les yeux, laver immédiatement et abondamment à l'eau et consulter un médecin (**S26**).
4. Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Il est conseillé de décontaminer l'ensemble des éléments à usage unique utilisés au cours des essais par immersion pendant 1 heure minimum dans l'hypochlorite de sodium à 5% fraîchement préparé, avant de les éliminer ou d'autoclaver à 120°C.

## Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée **(20X)** à température ambiante (21°C ± 5°C) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la Solution de lavage **(1X)** par dilution au 1/20ème de la Solution de lavage **(20X)** dans de l'eau distillée/désionisée.

## Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C ± 5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

1. Distribuer :

- 190µl de ***Tampon de Dilution 2*** dans chaque puits
- 10µl de ***Contrôle Négatif*** dans les cupules A1 et B1
- 10µl de ***Contrôle Positif*** dans les cupules C1 et D1
- 10µl de chaque échantillon ou mélange de 10 sérums à tester dans les cupules restantes.

2. Incuber **45 min*** (± 4 min) à 21°C (±5°C).

** Pour les sérums individuels uniquement, il est aussi possible de réaliser une incubation de nuit (protocole long), **entre 16 et 20 heures** à 21°C (± 5°C).*

3. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 µl de **Solution de lavage**. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
4. Préparer le ***Conjugué 1X*** en diluant le ***Conjugué*** (10X) au 1 :10 (protocole court) ou au 1:20 (protocole long – sérums individuels uniquement) en ***Tampon de Dilution 3***.
5. Distribuer 100 µl de ***Conjugué*** **1X** dilué dans chaque cupule.
6. Incuber **30 min ± 3 min** à 21°C (±5°C).
7. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 µl de **Solution de lavage**.
8. Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque cupule.
9. Incuber **15 min ± 2 min** à 21°C (±5°C) à l'obscurité.
10. Distribuer 100 µl de **Solution d'arrêt** dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
11. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

**Annexe 5:** Caractéristiques (sensibilité et spécificité) du kit d'ELISA indirect

IDvet
Innovative Diagnostics

Internal validation report

# ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species

Indirect ELISA for the detection of antibodies against *Brucella abortus*, *melitensis* or *ovis* in bovine, swine, caprine and porcine sera and plasma

- **Calibrated according to the Commission Decision of 18 December 2006, Annex C (2006/964/EC) to correctly detect the SE 03 (equivalent to OIE ELISA$_{IgG}$ SE)** standard.
- **Straightforward, versatile test, with short and overnight incubations for individual serum or plasma samples, or pools of up to 10 samples.**
- **Multi-species test for ruminants and swine.**

## Introduction

Brucellosis is a disease caused by *Brucella*. There are several species of *Brucella*, each with slightly different host specificity, including *B. melitensis* (goats and sheep), *B. abortus* (cattle and bisons), *B. suis* (pigs), and *B. ovis* (sheep).

Brucellosis infection of cattle causes abortion or premature calving of recently infected animals between the fifth and eighth month of pregnancy. Abortions, retained placenta, weak calves and sterility frequently occur. Milk produced from an infected cow may also harbour the organism. Infected milk represents a public health hazard, as *Brucella* causes contagious fever in humans.

Serological testing is used for disease control and eradication by the ELISA method.

The **ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species** ELISA detects antibodies directed against *Brucella abortus*, *melitensis* and *suis* in serum and plasma. This test is straightforward and versatile with short and overnight incubations for individual serum or plasma samples, or pools of up to 10 samples.

The test may also be used for the detection of *Brucella suis* in earlier stage, as *B. suis* antibodies will cross-react with the LPS of *Brucella abortus* (and the multi-species conjugate that recognizes recognizes mammalian IgG). When testing swine samples, cross-reactions due to *Yersinia enterolitica* may be observed with this test, especially for free range animals. It is therefore recommended that positive results be confirmed with another technique. The kit is easy-to-use, and results are obtained in 90 minutes.

## Kit Principle

Specimens to be tested and controls are added to microwells coated with purified *Brucella abortus* LPS. Anti-*Brucella* antibodies, if present, form an antibody-antigen complex.

A multi-species horseradish peroxidase (HRP) conjugate is added to the microwells. It fixes to the anti-*Brucella* antibodies, forming an antigen-antibody-conjugate-peroxidase complex.

After washing in order to eliminate the excess conjugate, the substrate solution (TMB) is added.

The resulting colorimetric depends on the quantity of specific antibodies present in the specimen to be tested:

- In the presence of antibodies, a blue solution appears which becomes yellow after addition of the stop solution.
- In the absence of antibodies, no colorimetric appears.

The microplate is read at 450 nm.

### Result Interpretation:

For each sample, the S/P percentage (S/P%) is calculated: $[OD_{Sample} - OD_{NC}] / [OD_{PC} - OD_{NC}] \times 100$.

Samples are then classified as positive, negative or doubtful depending on this S/P% result, as indicated in the table below:

| S/P% | Interpretation |
|---|---|
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |
| [illegible] | [illegible] |

## Ruminants

### Specificity

The following ruminant sera from disease-free herds were tested:

- 1100 bovine individual sera from France (Brittany, Auvergne and Hérault)
- 700 bovine pools of 10 sera from France (Brittany, Auvergne and Hérault)
- 214 ovine sera from France and Australia
- 168 caprine sera from France (Loiret)
- a negative French standard (BRU INRA SR 011) from the French reference laboratory, AFSSA

**Results (Figures 1 & 2):**

- 1147/1150 bovine individual sera were found negative. 3 sera[1] gave a positive result.
  Bovine individual sera: **measured specificity = 99.74% ($CI_{95\%}$: 99.25% – 99.91%), n=1150.**
- All bovine pooled sera gave negative results.
  Bovine pooled sera: **measured specificity = 100% ($CI_{95\%}$: 99.49% – 100%), n=700.**
- All ovine and caprine sera gave negative results.
  Ovine and caprine sera: **measured specificity = 100% ($CI_{95\%}$: 98.11% – 100%), n=214.**
- The SR 01 negative standard was correctly identified as negative (result not shown).

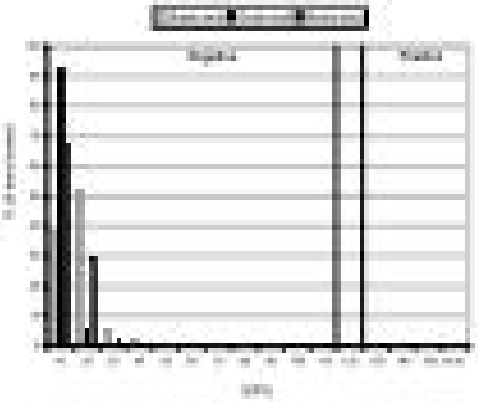


Figure 1: S/P% distribution for bovine, ovine and caprine individual sera, cut-off: 110/120%

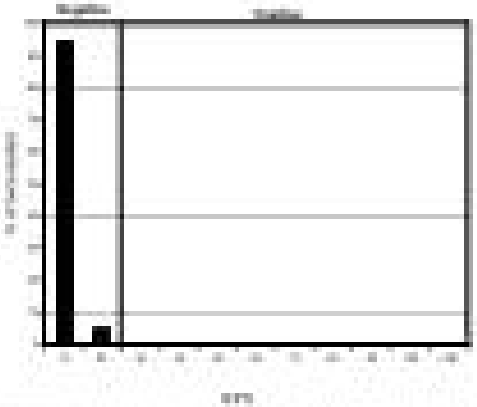


Figure 2: S/P% distribution for bovine pooled sera (pools of 10 sera), cut-off: 120%

[1] These 3 sera were also found positive by the Chaz-Bengal method, more likely due to cross-reactions with Neospora antibodies.

## Sensitivity

### 1) Analytical sensitivity

The OIE/SS, the OIEELISA$_{ref}$/SS, the OIEELISA$_{ref}$/SS and the OIEELISA$_{ref}$/SS are international primary standards from which secondary reference national standard serum (working standards) must be established, as described in the Commission Decision of 10 December 2008, Annex C (2008/844/EC) and the OIE Terrestrial Manual, Chapter 2.4.3.

In addition, according to the Commission Decision of 10 December 2008, Annex C (2008/844/EC), it is necessary to test the appropriate dilution of one of the OIE standards (OIEIRC, OIEELISA$_{ref}$/SS, or OIEELISA$_{ref}$/SS), but it is not necessary to test all three.

The French reference laboratory ANSES produces a national serum standard (RPG PDS 08/ 03) which is equivalent to the international OIEELISA$_{ref}$/SS. The national serum standard is calibrated once a year to the OIEELISA$_{ref}$/SS.

Given the aforementioned points, IDvet tested the ANSES national serum standard 08/03, calibrated on the OIEELISA$_{ref}$/SS. This standard was diluted in a negative dilution standard (RPG NEG 08 14) from ANSES, and tested using the short and overnight protocols for individual and pooled sera in accordance with the minimal and maximal analytical sensitivity requirements of the European directive 64/432 and the OIE.

**Results (Table 1):**

- The ID Screen® ELISA correctly identified the 08/03 standard equivalent to the OIEELISA$_{ref}$/SS at the required dilutions.

| ID Screen® ELISA Protocol | Dilution of the 08/03 calibrated standard (equiv. OIEELISA$_{ref}$/SS) | ID Screen® ELISA Results | | Expected result |
|---|---|---|---|---|
| | | S/P% | Status | |
| Individual serum, short incubation | 1/10 | 224 | + | + |
| | 1/50 | 42 | - | - |
| Individual serum, overnight incubation | 1/10 | 153 | + | + |
| | 1/50 | 18 | - | - |
| Pooled sera, short incubation | 1/50 | 38 | + | + (≥ 4+) |
| | 1/100 | 12 | - | - |

Table 1: Results obtained with the ID Screen® ELISA using the 08/ 03 equivalent to the OIEELISA$_{ref}$/SS. Cut-off for individual samples = 110 (10%), cut-off for pooled samples = 30%.

### 2) Positive serum panel

The serum panel from the ANSES French reference laboratory panel was tested, as well as a positive serum from the FLI reference laboratory in Germany.

**Results (Table 2):**

- The ID Screen® ELISA correctly identified each serum as positive regardless of the protocol used (short, overnight, and pooled sera incubations).

| Serum panel | | ID Screen® ELISA |
|---|---|---|
| Laboratory | Serum | Short, overnight, and pooled sera incubations |
| ANSES (France) | Weak positive 1 (RPG 11) | Positive |
| | Weak positive 2 (RPG 11) | Positive |
| | Weak positive 3 (RPG 11) | Positive |
| | Weak positive 4 (RPG 11) | Positive |
| | Weak positive 5 (RPG 11) | Positive |
| FLI (Germany) | Positive serum (RPG 11) | Positive |

Table 2: Positive serum panel results.

### 3) Infected herds

The following sera from infected herds were tested with the ID Screen® ELISA:

- 20 individual bovine sera from Southern Italy (individual serum method and pooled serum method after dilution 1:10 in negative serum)
- 8 ovine sera from Southern Italy
- 5 caprine sera from Southern Italy

These sera gave positive results with the Rose Bengal Test and Complement Fixation Test (CFT).

**Results (Table 3):**

- All samples were correctly identified as positive.
- **Measured sensitivity = 100% ($CI_{95\%}$: 88.07%– 100%), n=33.**

| Serum | Rose Bengal | CFT | ID Screen® ELISA (Individual serum method) | | ID Screen® ELISA (Pooled serum method) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | S/P% | Status | S/P% | Status |
| 1 (ovine) | + | 1:16 | 136 | + | 58 | + |
| 2 (ovine) | + | 1:64 | 121 | + | 62 | + |
| 3 (ovine) | + | 1:32 | 145 | + | 75 | + |
| 4 (ovine) | + | 1:128 | 130 | + | 73 | + |
| 5 (ovine) | + | 1:64 | 127 | + | 75 | + |
| 6 (ovine) | + | 1:128 | 172 | + | 122 | + |
| 7 (ovine) | + | 1:64 | 153 | + | 92 | + |
| 8 (ovine) | + | 1:64 | 133 | + | 94 | + |
| 9 (ovine) | + | 1:32 | 133 | + | 70 | + |
| 10 (ovine) | + | 1:16 | 133 | + | 73 | + |
| 11 (ovine) | + | 1:32 | 137 | + | 116 | + |
| 12 (ovine) | + | 1:64 | 130 | + | 94 | + |
| 13 (ovine) | + | 1:128 | 155 | + | 99 | + |
| 14 (ovine) | + | 1:16 | 134 | + | 74 | + |
| 15 (ovine) | + | 1:16 | 139 | + | 44 | + |
| 16 (ovine) | + | 1:32 | 138 | + | 73 | + |
| 17 (ovine) | + | 1:16 | 124 | + | 86 | + |
| 18 (ovine) | + | 1:32 | 124 | + | 87 | + |
| 19 (ovine) | + | 1:64 | 131 | + | 96 | + |
| 20 (ovine) | + | 1:256 | 137 | + | 94 | + |
| 21 (sheep) | + | 1:32 | 142 | + | | |
| 22 (sheep) | + | 1:64 | 138 | + | | |
| 23 (sheep) | + | 1:32 | 138 | + | | |
| 24 (sheep) | + | 1:64 | 139 | + | | |
| 25 (sheep) | + | 1:64 | 128 | + | | |
| 26 (sheep) | + | 1:128 | 134 | + | | |
| 27 (sheep) | + | 1:64 | 131 | + | | |
| 28 (sheep) | + | 1:64 | 137 | + | | |
| 29 (goat) | + | 1:32 | 133 | + | | |
| 30 (goat) | + | 1:128 | 176 | + | | |
| 31 (goat) | + | 1:16 | 178 | + | | |
| 32 (goat) | + | 1:64 | 138 | + | | |
| 33 (goat) | + | 1:256 | 136 | + | | |

Table 3. Results obtained on 33 infected animals

## Swine

### Sensitivity*

20 wild boar sera from Germany (Dresden) were tested. These sera were confirmed as positive by the Complement Fixation Test (CFT).

10 swine sera were also tested by the (ANSES) (French reference laboratory, Maisons-Alfort).

Results (Table 4):

- All the wild boar sera tested gave positive results
- All the swine sera tested gave negative results (data not shown)
- **Measured sensitivity = 100% [CI95%: 88.06% - 100%], n=20.**

| Sample | CFT | | ID Screen® FLISA | |
|---|---|---|---|---|
| | Titre | Status | S/P | Status |
| 1 | 16 | + | 112 | + |
| 2 | 128 | + | 111 | + |
| 3 | 32 | + | 98 | + |
| 4 | 128 | + | 93 | + |
| 5 | 64 | + | 111 | + |
| 6 | 128 | + | 110 | + |
| 7 | 128 | + | 102 | + |
| 8 | 32 | + | 88 | + |
| 9 | 128 | + | 94 | + |
| 10 | 128 | + | 104 | + |
| 11 | 128 | + | 99 | + |
| 12 | 64 | + | 114 | + |
| 13 | 64 | + | 112 | + |
| 14 | 128 | + | 112 | + |
| 15 | 128 | + | 94 | + |
| 16 | 128 | + | 113 | + |
| 17 | 64 | + | 104 | + |
| 18 | 128 | + | 112 | + |
| 19 | 32 | + | 96 | + |
| 20 | 128 | + | 114 | + |

Table 4. Wild boar sera results using the ID Screen® FLISA and CFT.

*When testing swine samples, cross-reactions due to Epizootic haemorrhagic disease may be observed with the test, especially for free range animals. It is therefore recommended that positive results be confirmed with another technique.

## Specificity

[illegible] sera were from disease-free French and Italian herds were tested.

**Results (Figure 3):**

- All sera were found negative.
- **Measured specificity = 100% [CI95%: 98.99% - 100%], n=276.**

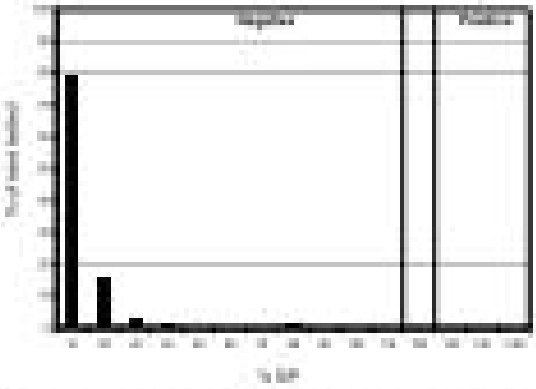



Figure 3: SP% distribution for porcine sera from disease-free herds

## Conclusion

The **ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species** (IS-IDA)

- demonstrates high specificity and sensitivity
- calibrated as per the Commission Decision of 10 December 2008, Annex C (2008/894/EC) and OIE requirements

It can be used in surveillance and marine sera thanks to the multi-species conjugate.

It is a straightforward and flexible test for both individual and pooled sera, with short and overnight incubations.

**Annexe 6:** Modèle Bayésien et résultat

## *Modèle Bayésien et résultat*

```
model

{
        result[1:4] ~ dmulti(pr[1:4], n)
        pr[1] <- th[1]*th[2]*th[4]+(1-th[1])*(1-th[3])*(1-th[7])
        pr[2] <- th[1]*th[2]*(1-th[4])+(1-th[1])*(1-th[3])*th[7]
        pr[3] <- th[1]*(1-th[2])*th[5]+(1-th[1])*th[3]*(1-th[6])
        pr[4] <- th[1]*(1-th[2])*(1-th[5])+(1-th[1])*th[3]*th[6]

        th[1] ~ dbeta(1,1)
        th[2] ~ dbeta(1,1)I(0.8,1)
        th[3] ~ dbeta(1,1)I(0.9,1)
        th[4] ~ dbeta(1,1)I(0.21,1)
        th[5] ~ dbeta(1,1)
        th[6] ~ dbeta(1,1)I(0.6,1)
        th[7] ~ dbeta(1,1)

p<-th[1]
se[1]<-th[2]
sp[1]<-th[3]
se[2]<-th[2]*th[4]+(1-th[2])*th[5]
sp[2]<-th[3]*th[6]+(1-th[3])*th[7]

for (i in 1:4)
{
        d[i] <- result[i]*log(max(result[i],1)/(pr[i]*n))
}
G0 <- 2 * sum(d[])
result2[1:4] ~ dmulti(pr[1:4], n)
for (i in 1:4)
{
        d2[i] <- result2[i]*log(max(result2[i],1)/(pr[i]*n))
}
Gt<- 2 * sum(d2[])
bayesp<- step(G0 - Gt)
}

list(result=c(51,40,57,883), n=1031)
```

| node | mean | sd | MC error | 2.5% | median | 97.5% | start | sample |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| p | 0.05407 | 0.02757 | 4.024E-4 | 0.004275 | 0.05477 | 0.1046 | 501 | 88500 |
| se[1] | 0.8957 | 0.05769 | 2.62E-4 | 0.8044 | 0.8934 | 0.9945 | 501 | 88500 |
| se[2] | 0.5828 | 0.1729 | 0.001498 | 0.2641 | 0.574 | 0.9267 | 501 | 88500 |
| sp[1] | 0.9566 | 0.02417 | 3.543E-4 | 0.9108 | 0.9577 | 0.9972 | 501 | 88500 |
| sp[2] | 0.9209 | 0.01767 | 2.154E-4 | 0.8874 | 0.9215 | 0.952 | 501 | 88500 |